ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۹، شماره ۴، مهر و آبان ۱۴۰۳(شماره پی در پی ۱۶۵)

مقاله پژوهشی

داکینگ مولکولی ترکیبات زیستی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) با آسپارتیل پروتئاز ترشحی-۵ مخمر *Candida albicans* برای یافتن ترکیبات مهاری احتمالی

میلاد زارع[۱]، جعفر رزم آرا[۲]، سپیده پرویزپور[۳]، امیرعباس برزگری[۴*]

[۱]کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران، [۲]گروه علوم کامپیوتر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، [۳]مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، [۴] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدا آلبیکنس علی‌رغم این که به عنوان یک مخمر همسفره با انسان در نظر گرفته می‌شود، در شرایط خاص می‌تواند به یک عامل مهاجم تبدیل شده و باعث انواع مختلفی از عفونت‌های حاد یا مزمن شود. استفاده از داروهای ضد قارچی موجود علیه این مخمر، به دلیل اثرات جانبی این داروها و نیز مقاومت این مخمر نسبت به آنها با محدودیت همراه است. بنابراین، هدف از این مطالعه تعیین و بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات زیستی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) با آسپارتیل پروتئاز ترشحی-۵ مخمر *Candida albicans* برای یافتن ترکیبات مهاری احتمالی بود.

روش بررسی: در این مطالعه داکینگ مولکولی که در سال ۱۴۰۳انجام شد، مواد مؤثره گیاهی آویشن باغی از پایگاه داده LOTUS و NPASS به دست آمد و ساختار پروتئین SAP5 با جستجو در بانک داده RCSB PDB جمع‌آوری شد. داکینگ مولکولی لیگاندها با آنزیم SAP5 با استفاده از نرم‌افزار AutoDock Vina در بسته نرم افزاری PyRx 0.8 برای محاسبه انرژی اتصال و تعیین موقعیت اتصال هر ترکیب در برهمکنش با SAP5 استفاده شد. ترکیباتی که بهترین انرژی اتصال را با پروتئین هدف داشتند، از نظر خصوصیات فارماکوکینتیک و سمیت مورد بررسی قرار گرفتند و در انتها لیگاندهای منتخب با استفاده از BIOVIA Discovery Studio تصویرسازی شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارهای مختلف و مقایسه با نتایج مقالات قبل در این زمینه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: انرژی اتصال ترکیبات گیاه آویش به جایگاه فعال آنزیم SAP5 از ۹/۹- تا ۳/۴- متغیر بود. بیشترین تمایل اتصال به جایگاه فعال این آنزیم مربوط به سه ترکیب Eriodictin، (-)-Taxifolin و Ellagic Acid بود. این ترکیبات از نظر ویژگی‌های فارماکوکینتیک و سمیت مطلوب بودند. پژوهش‌های فارماکوکینتیک سه ترکیب منتخب با استفاده از سرور آنلاین SwissADME نشاند دهنده خواص دارویی امیدوار کننده این ترکیبات بود. با وجود این، بررسی سمیت این ترکیبات با استفاده از سرورهای ADMETlab و ProTox-II نشان دهنده سمیت اریودیکتین بود.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش‌های داکینگ نشان داد که برخی ترکیبات موجود در گیاه آویشن توانایی مهار آسپارتیل پروتئاز ترشحی-۵ را دارند. بنابر این، احتمالاً یکی از مکانیسم‌های دخیل در اثرات ضد گاندیدایی آویشن باغی بر مخمر *کاندیدا آلبیکنز* از طریق مهار این پروتئین می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گیاه آویشن باغی، *کاندیدا آلبیکنس*، فارماکوکینتیک، داکینگ مولکولی

***نویسنده مسئول: امیرعباس برزگری، مراغه، دانشگاه مراغه، گروه زیست‌شناسی**

Email: Barzegaridoctora@gmail.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می شوند."

مقدمه

در سراسر جهان، بیش از ۷/۵ میلیون نفر مبتلا به کاندیدیازیس تهاجمی هستند که میزان مرگ و میر آنها تقریباً ۴۰ درصد است(۱). عوارض جانبی نامطلوب، ناکارآمدی و تکامل سریع مقاومت به قارچ‌ها، تقاضا برای ضدقارچ‌های جدید را افزایش داده است. *کاندیدا آلبیکنس* از SAPها برای از بین بردن بافت خارجی و فرار از سیستم ایمنی میزبان استفاده می‌کند. سویه‌های *Candida albicans* فاقد SAP1، SAP2، و SAP3 به طور قابل توجهی کم‌تر خطرناک هستند و آسیب ناچیزی به مدل آزمایشگاهی وارد می‌کنند(۳ و۲).

قارچ‌ها ارگانیسم‌های هتروتروفی هستند که برخی از گونه‌های آنها می‌توانند برای انسان بیماری‌زا باشند(۴). جنس *کاندیدا* جزو مخمرهای تک‌سلولی طبقه‌بندی می‌شود و از میان اعضای این جنس که حدودا ۱۵۰ گونه را شامل می‌شوند، برخی از آنها مانند *کاندیدا آلبیکنس*(*Candida albicans*)، *کاندیدا کروزئی*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* می‌توانند برای انسان بیماری‌زا باشند. با وجود این، گونه‌های جنس *کاندیدا* به عنوان فلور طبیعی انسان شناخته می‌شوند و آنها را می‌توان در پوست و غشاهای مخاطی لوله گوارش، واژن و حفره دهانی پیدا کرد(۷ـ۵). تخمین زده می‌شود که حدود ۵۰ درصد از جمعیت انسانی حامل فرم غیرپاتوژن این قارچ باشند(۸). با این حال، در برخی شرایط مثلاً در افرادی که سیستم ایمنی آنها تضعیف شده است، این مخمرها از یک موجود همسفره به یک عامل فرصت‌طلب تبدیل شده و می‌توانند باعث ایجاد عفونت‌های مختلف در میزبان خود شود. عفونت‌های ایجاد شده به وسیله فرم پاتوژن این مخمرها می‌تواند پوست، مخاط و حتی عفونت‌های خطرناک سیستمیک (کاندیدمی) را شامل شود. کاندیدمی به علت شرایطی که باعث تضعیف سیستم ایمنی می‌شوند، مانند سرطان، دیالیز، دیابت، استفاده از کورتیکواستروئیدها، پیوند عضو و جراحی می‌تواند تسهیل شود(۹). در مقایسه با عفونت‌های باکتریایی سیستمیک، احتمال مرگ و میر ناشی از عفونت‌های سسیتمیک کاندیدایی بسیار بالاتر است(۱۰). در میان گونه‌های مختلف جنس *کاندیدا* به نظر می‌رسد که گونه *کاندیدا آلبیکنس* بیشترین بیماری‌زایی را داشته باشد و در واقع مسئول ایجاد ۸۰ تا ۹۰ درصد از عفونت‌های کاندیدایی می‌باشد. علاوه بر این، *کاندیدا آلبیکنس* به عنوان یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی شناخته می‌شود(۱۱).[۱۰]

در تبدیل شدن فرم همسفره[1] این مخمر به فرم پاتوژن، فاکتورهای ویرولانس مختلفی می‌توانند نقش داشته باشد. از جمله این موارد می‌توان به پروتئین‌هایی به نام SAP اشاره کرد که به وسیله

1-Commensal

ژن‌هایی به همین نام ساخته می‌شوند. این پروتئین‌ها در واقع آسپارتیل پروتئازهای ترشحی(Secreted aspartyl protease) هستند که به وسیله این قارچ به محیط ترشح می‌شوند و با شماره یک تا ده(SAP1-10) نام‌گذاری می‌شوند. تولید SAPها به تعدادی از ویژگی‌های ویرولانس از جمله تولید هیف، چسبیدن به سلول‌ها و تغییر فنوتیپ نسبت داده می‌شود(۱۲). از میان این پروتئین‌ها، نشان داده شده است که SAP5 احتمالاً نقش مهمی در کاندیدیازیس سیستمیک(کاندیدمی) دارد، زیرا کاهش بیان این پروتئین با کاهش عفونت‌های سیستمیک همراه است. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که این آنزیم در کلونیزه شدن و نفوذ در سطوح مخاطی نقش داشته باشد. هم‌چنین، بیان این پروتئین در هنگام تشکیل هیف‌ها و مسیلیوم افزایش می‌یابد(۱۴-۱۲).

گیاه آویشن باغی(*Thymus vulgaris Linn.*) یک گیاه معطر از خانواده نعناعیان *Lamiaceae* است که پراکندگی زیادی در جهان دارد(۱۵). این گیاه دارویی دارای خواص فارماکولوژیک زیادی است که از جمله آنها می‌توان به خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی، التیام دهنده زخم، ضداسپاسم، بادشکن، ضدکرم و اثر ضدباکتریایی آن اشاره کرد(۱۶). علاوه بر این، پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که گیاه آویشن باغی دارای خواص ضدقارچی می‌باشد و عصاره و اسانس آن می‌تواند اشکال مقاوم به دارو را در عفونت کاندیدا آلبیکنس از بین ببرد(۲۰-۱۷). داروهای رایج در درمان عفونت کاندیدایی دارای اثرات جانبی مختلفی بوده و این مخمر نسبت به آنها مقاومت دارویی پیدا کرده است(۲۴-۲۱). استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها به دلیل اثرات جانبی کمتر آنها رو به افزایش است(۲۵). شناسایی محصولات طبیعی با پتانسیل دارویی با موانع متعددی همراه است. این موانع شامل مشکلات قابل توجهی در استخراج و شناسایی ترکیبات، شناسایی اهداف دارویی بالقوه، اندازه‌گیری اثربخشی دارو و تحلیل‌های فارماکوکینتیک/فارماکودینامیک ترکیبات می‌باشد(۲۶). توسعه ابزارهای محاسباتی مختلف در حوزه فارماکواینفورماتیک این موانع را برطرف کرده و فرآیند طراحی دارو را از شناسایی ترکیبات و اهداف دارویی تا غربالگری یا بازطراحی داروهای موجود علیه یک هدف خاص، ساده‌تر نموده است(۲۷). با توجه به اثرات ضد کاندیدایی این گیاه و نقش مهمی که پروتئین SAP5 در بیماری‌زایی این انگل دارد، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات زیستی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) با آسپارتیل پروتئاز ترشحی۵ [1] مخمر *Candida albicans* برای یافتن ترکیبات مهاری احتمالی بود.[2]

1-Secreted Aspartyl Protease 5(SAP5)

روش بررسی

در این مطالعه داکینگ مولکولی که در سال ۱۴۰۳ انجام شد، ترکیبات فعال زیستی گیاه آویشن باغی برای غربال‌گری مجازی از پایگاه‌های داده LOTUS و NPASS به دست آمد و سپس ساختار سه بعدی آنها با استفاده از پایگاه داده NCBI PubChem با فرمت SDF بارگیری شد. سپس، انرژی ترکیبات به حداقل رسانده شد و برای داکینگ مولکولی به فرمت pdbqt ذخیره شدند. پپستاتین نیز که یک مهار کننده قدرتمند آسپارتیل پروتئازهای ترشحی است، به عنوان داروی کنترل برای مهار SAP استفاده شد.

با مرور منابع آنزیم آسپارتیل پروتئاز ترشحی ۵ به عنوان یکی از آنزیم‌های مهم در ویرولانس کاندیدا آلبیکنس انتخاب شد. بر اساس این پژوهش‌ها، ساختار آنزیم با شناسه qzx۲ از پایگاه RCSB PDB استخراج گردید. این انتخاب با توجه به اهمیت و کاربرد این ساختار در بررسی‌های قبلی صورت گرفت(۲۹ و۲۸). هم‌چنین، ساختار SAP5 با حذف زنجیرهای اضافی و مولکول‌های آب برای انجام داکینگ مولکولی آماده شد. ساختار پروتئین خالص‌شده دارای وزن کل ۷۵/۸۵ کیلو دالتون شامل ۵۷۲۱ اتم است که وضوح ساختاری آن ۲/۵ آنگستروم است و از طریق روش پراش پرتو ایکس، به دست آمده‌است.

جایگاه فعال آنزیم برای تنظیم گرید باکس[۱] داکینگ در حین انجام داکینگ مولکولی استفاده شد. آمینواسیدهای جایگاه فعال SAP5 بر اساس پژوهش‌های قبلی تعیین شد(۳۰).

از نرم‌افزار AutoDock Vina در بسته نرم‌افزاری PyRx 0.8 برای محاسبه انرژی اتصال و تعیین موقعیت اتصال هر ترکیب در برهمکنش با SAP5 استفاده شد. نرم‌افزار AutoDock Vina یکی از پرکاربردترین نرم‌افزارها در جامعه علمی برای مطالعه برهمکنش پروتئین ـ لیگاند است. مختصات دکارتی گرید باکس داکینگ به صورت x=۹/۸۳۷، y=۳۲/۴۲۶ و z=۲۶/۹۱۳ تنظیم شد. اندازه گرید باکس داکینگ در ابعاد ۳۲ در ۳۰ در ۲۸ تنظیم شد. نرم افزار AutoDock vina بر اساس اصل الگوریتم ژنتیک لامارکی ساخته شده است. برهمکنش‌های اتصال بین لیگاند و گیرنده هدف که منجر به طراحی و فرآیند توسعه دارو مبتنی بر ساختار می‌شود، با استفاده از این نرم افزار انجام می‌شود(۳۱).[۲] کمپلکس‌های با کمترین انرژی اتصال (مقادیر منفی‌تر بر حسب کیلو کالری/مول) برای بررسی در مراحل بعدی انتخاب شدند. اتصال با استفاده از پارامترهای پیکربندی پیش فرض برنامه PyRx انجام شد. علاوه بر این، از نرم افزار BIOVIA Discovery Studio Visualizer برای مشاهده برهم‌کنش اتصال بین لیگاند–پروتئین استفاده شد. این نرم‌افزار که به وسیله Accelrys توسعه و منتشر شده‌است، یک نرم افزار رایگان است که برای تصویرسازی

1-Grid box
2-Pharmacophore

برهمکنش‌های لیگاند– پروتئین استفاده می‌شود. کاربردهای اصلی این نرم‌افزار شامل طراحی مبتنی بر ساختار، شبیه‌سازی، طراحی لیگاند، مهندسی ماکرومولکول، طراحی و اعتبارسنجی ماکرومولکول (ابزار طراحی و بهینه‌سازی آنتی‌بادی، اتصال پروتئین–پروتئین) و مدل‌سازی فارماکوفور[۴] می‌باشد(۳۴-۳۲).

در مرحله بعد، مطالعه فارماکوکینتیک(ارزیابی ویژگی‌های جذب، توزیع، متابولیسم و دفع ترکیبات با بیشترین نیروی اتصال) صورت گرفت. این مرحله یک گام مهم در تضمین موفقیت بالینی و تجاری یک داروی بالقوه است، زیرا ویژگی‌های فارماکوکینتیک دارو می‌تواند بر آب‌گریزی، چربی‌دوستی و عبور از سد خونی ـ مغزی قبل از دفع دارو از طریق ادرار و مدفوع از بدن تأثیر بگذارد. برای ارزیابی خواص ADME ترکیبات، از سرور آنلاین Swiss-ADME استفاده شد (۳۵).

برای اطمینان از ایمنی ترکیبات منتخب گیاه با بیشترین میل ترکیبی با جایگاه فعال آنزیم SAP5، سمیت آن‌ها بررسی شد. آزمایش سمیت یک مرحله مهم در توسعه دارو است، زیرا به دستیابی به مشخصات ایمنی برای ترکیب کمک می‌کند. آزمایش‌های سمیت پیش‌بالینی با هدف پیش‌بینی خطرات احتمالی در ترکیبات، مانند؛ جهش‌زایی، سرطان‌زایی و ایمونوتوکسیسیتی، هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی، انجام می‌شود. سمیت ترکیبات منتخب با استفاده از سرور آنلاین ADMETlab 2.0 ارزیابی شد(۳۶). پژوهش‌های بیشتر با استفاده از سرور ProTox-II برای بررسی اثر سمی این ترکیب انجام شد که مسیرهای سم شناسی مختلف مانند مسیرهای سیگنال‌دهی گیرنده هسته‌ای و مسیرهای پاسخ استرس را فراهم می‌کند (۳۷).

داده‌های به دست آمده از بسته نرم‌افزاری PyRx با استفاده از نرم‌افزار BIOVIA Discovery Studio و مقایسه با نتایج مقالات قبل در این زمینه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

ترکیبات فعال زیستی گیاه آویشن باغی از پایگاه‌های داده گیاه‌شناسی LOTUS و NPASS به دست آمد. پایگاه‌داده LOTUS، یکی از جامع‌ترین و مشروح‌ترین منابع برای وقوع محصولات طبیعی است که به صورت رایگان و بدون محدودیت در دسترس است(۳۸). هم‌چنین، پایگاه داده NPASS شامل بیش از ۳۲۲۸۷ ارگانیسم و تقریبا ۹۶۴۸۱ محصول طبیعی است(۳۹). در جستجو برای به دست آوردن ترکیبات موجود گیاه مورد نظر، فهرستی از ۴۵۰ ترکیب شناسایی شد(جدول ۱). ترکیبات به دست آمده با استفاده از نرم افزار AutoDock از طریق برخی مراحل پیش‌پردازشی بهینه شدند و سپس برای داکینگ مولکولی به فرمت فایل "pdbqt" تبدیل شدند.

بر اساس پژوهش‌های قبلی، توالی اسیدآمینه‌های حاضر در جایگاه فعال SAP5 مشخص شد(جدول ۱ و شکل ۱). شماره رزیدوها نشان دهنده محل قرارگیری اسیدهای آمینه بر اساس توالی پروتئین است. بر اساس این توالی، موقعیت گرید باکس داکینگ در ناحیه کاتالیتیک و فعال آنزیم تنظیم شد.

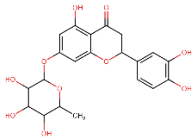
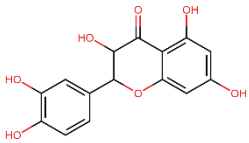
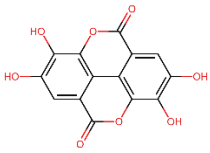
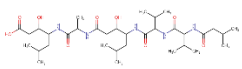
نتایج نشان می‌دهد که تمایل اتصال ترکیبات گیاه به جایگاه فعال آنزیم SAP5 در محدوده‌ای بین ۳/۴ ـ و ۹/۹ـ کیلوکالری بر مول است(جدول ۲). در بین ۴۵۰ ماده شیمیایی گیاه، سه ترکیب برتر بر اساس میل اتصال بیشتر از پپستاتین به جایگاه فعال آنزیم انتخاب شدند. انرژی اتصال سه ترکیب برتر حاصل از داکینگ مولکولی در جدول ۲ نشان داده شده است. تعیین فعالیت بازدارندگی یک ترکیب را نمی‌توان تنها بر اساس مقدار انرژی پیوند آن تعیین کرد، بنابراین بررسی نوع پیوند یا برهمکنش شیمیایی بین پروتئین و لیگاند و تعداد اسید آمینه درگیر هم باید مورد قرار بگیرد. تعامل پروتئین SAP5 با سه لیگاند انتخابی و ترکیب کنترل با استفاده از BIOVIA Discovery Studio Visualizer مورد بررسی قرار گرفت(شکل ۱). ترکیب Ellagic Acid با آمینواسیدهای GLY85، ASP32، TYR225 و ASP86 پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. هم‌چنین ترکیب(−)−taxifolin با آمینواسیدهای GLY220، ASP86، THR221 و TYR84 پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. علاوه بر این، با آمینواسید ASP86 پیوند الکترواستاتیک نیز ایجاد می‌کند. در نهایت ترکیب Eriodictin با آمینواسیدهای THR222، TYR225، ARG299 و ASP86 پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. علاوه بر این، با آمینواسیدهای ASP86 و ASP218 پیوند الکترواستاتیک نیز ایجاد می‌کند(جدول ۳).

ارزیابی فارماکوکینتیک ترکیبات منتخب با هدف شناسایی ویژگی‌های دارویی مطلوب و نامطلوب نامزدهای دارویی بالقوه، شامل؛ ویژگی‌های جذب، توزیع، متابولیسم و دفع(ADME) انجام شد. شناسایی ویژگی‌های نامطلوب می‌تواند به کاشفان دارو به رد نامزدهای نامناسب در مراحل اولیه طراحی دارو راهنمایی کند(۴۰). در این مطالعه، سرور آنلاین SwissADME به عنوان یک ابزار ارزشمند برای ارزیابی ویژگی‌های مختلف ADME استفاده شد. جدول ۴ ویژگی‌های ADME سه ترکیب منتخب را نشان می‌دهد. این خواص شامل خواص فارماکوکینتیک و فیزیکوشیمیایی، چربی دوستی، حلالیت در آب، شباهت به دارو و ویژگی های شیمی دارویی است. بر اساس نتایج ارایه شده در جدول ۴، روشن است که سه ترکیب (−)−taxifolin، Ellagic Acid و Eriodictin خواص امیدوارکننده‌ای را نشان می‌دهند و این پژوهش‌ها بیشتر را به عنوان نامزدهای دارویی بالقوه تأیید می‌کند.

یکی دیگر از مراحل مهم در طراحی داروی درون رایانه‌ای، آزمایش سمیت است. این کار ایمنی

یک نامزدهای دارویی را تعیین می‌کند. برای بررسی سمیت، ترکیبات منتخب به سرور آنلاین ADMETlab 2.0 ارسال شد. این وب‌سرور انواع مختلفی از مؤلفه‌های سمیت را بررسی می‌کند. از جمله این موارد می‌توان به hERG، AMES، سرطان‌زایی، مهارکننده گلیکوپروتئین(PGI) P و دوز کشنده در موش(LD50) اشاره کرد. علاوه بر این، سرور ProTox-II برای ارزیابی سمیت کبدی، سمیت ایمنی، جهش‌زایی، سمیت سلولی، گیرنده هیدروکربن آریل و گیرنده آندروژن استفاده شد. نتایج در شکل ۲ برای سه ترکیب منتخب نشان داده شده است، در این بررسی‌ها ترکیب taxifolin–(–) دارای جهش‌زایی است و همچنین به گیرنده‌های گیرنده استروژن آلفا و گیرنده هیدروکربنی آریل متصل می‌شود که از نشان دهنده ویژگی‌های سمیت این ترکیب است.

جدول ۱: نتایج حاصل از داکینگ مولکولی بین SAP 5 و سه ترکیب برتر گیاه آویشن

لیگاندها	شناسه PubChem	فرمول شیمیایی	انرژی اتصال (بر حسب کیلوکالری بر مول)	ساختار دو بعدی
Eriodictin	۱۰۱۷۸۹۴۶۶	$C_{21}H_{22}O_{10}$	–۹،۰	
Taxifolin–(–)	۷۱۲۳۱۶	$C_{15}H_{12}O_7$	–۸،۳	
Ellagic Acid	۵۲۸۱۸۵۵	$C_{14}H_6O_8$	–۸،۰	
پپستاتین	۵۴۷۸۸۸۳	$C_{34}H_{63}N_5O_9$	–۷،۰	

جدول ۲: فهرست برهمکنش‌های بین سه ترکیب منتخب گیاه آویشن باغی و ترکیب کنترل پپستاتین با پروتئین SAP 5

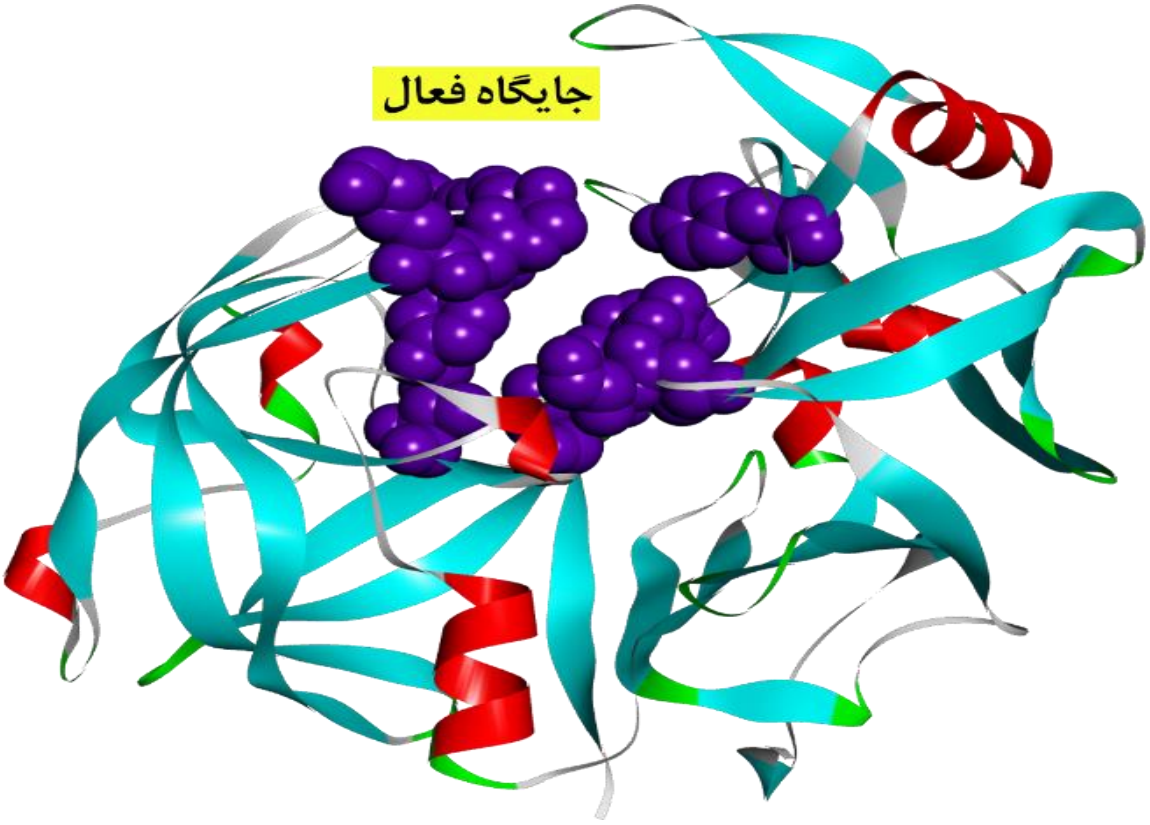
لیگاند	آمینواسید	فاصله (آنگستروم)	نوع پیوند	توضیح پیوند
Ellagic Acid	GLY85	۳/۱۳	هیدروژنی	پیوند هیدروژنی معمولی
	ASP32	۲/۵۴		
	TYR225	۲/۸۷		
	TYR225	۲/۰۱		
	ASP86	۴/۰۴	الکترواستاتیک	Pi-Anion
	ASP86	۳/۷۶		
	ASP86	۳/۲۲		
	ASP86	۳/۷۵		
	ASP86	۴/۰۷	هیدروژنی	Pi-Donor Hydrogen Bond
taxifolin-(-)	GLY220	۳/۲۵	هیدروژنی	پیوند کربن-هیدروژن
	ASP86	۳/۵۱	الکترواستاتیک	Pi-Anion
	THR221	۳/۸۲	هیدروژنی	Pi-Donor Hydrogen Bond
	TYR84	۵/۲۷	هیدروفوب	Pi-Pi T-shaped
	ALA119	۴/۹۶	هیدروفوب	Pi-Alkyl
	ILE123	۵/۳۰	هیدروفوب	Pi-Alkyl
Eriodictin	THR222	۲/۸۸	هیدروژنی	پیوند هیدروژنی معمولی
	TYR225	۳/۰۸		
	ARG299	۳/۰۷		
	ASP86	۳/۳۷	الکترواستاتیک	Pi-Anion
	ASP218	۴/۲۱		
	ILE12	۴/۴۴	هیدروفوب	آلکیل
	ILE223	۵/۳۴		
پپستاتین (کنترل)	ARG120	۲/۸۱	هیدروژنی	پیوند هیدروژنی معمولی
	ARG120	۲/۹۵		
	THR222	۳/۱۱		
	THR222	۳/۰۳		
	TYR225	۳/۰۲		
	ARG297	۲/۸۰		
	ARG299	۳/۲۴		
	TYR225	۲/۸۴		
	THR222	۳/۳۳	هیدروژنی	پیوند کربن-هیدروژن
	TRP51	۳/۵۳	هیدروفوب	Pi-Sigma
	TRP51	۳/۶۷		Pi-Sigma
	ILE12	۴/۳۴		آلکیل
	ILE123	۴/۸۲		آلکیل
	TRP51	۴/۹۲		Pi-Alkyl
	TRP51	۴/۴۳		Pi-Alkyl
	TRP51	۵/۰۹		Pi-Alkyl
	TYR84	۴/۳۸		Pi-Alkyl

جدول ۳: خواص فارماکوکینتیک سه ترکیب منتخب گیاه آویشن

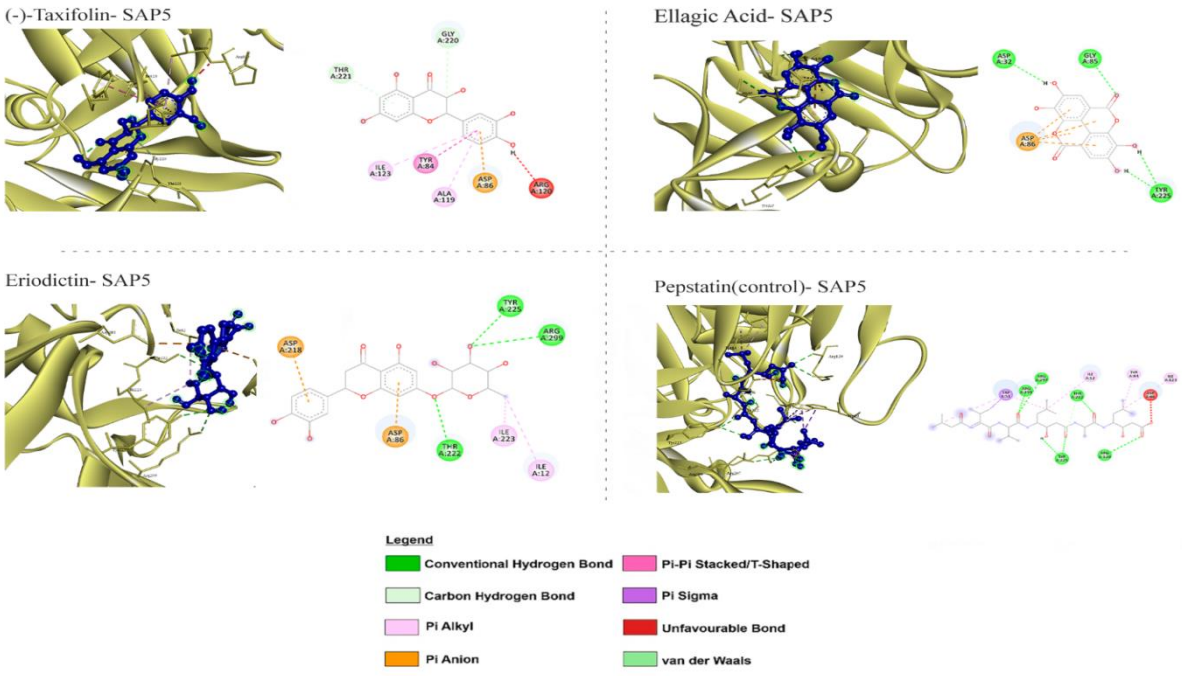
نام ترکیب ویژگی‌ها	اریودیکتین	تاکسیفولین	الاژیک اسید
وزن مولکولی	۴۳۴/۳۹	۳۰۴/۲۵	۳۰۲/۱۹
اتم‌های سنگین	۳۱	۲۲	۲۲
اتم‌های سنگین آروماتیک	۱۲	۱۲	۱۶
پیوندهای قابل‌چرخش	۳	۱	۰
پذیرنده‌های پیوند هیدروژنی	۱۰	۷	۸
گیرنده‌های پیوند هیدروژنی	۶	۵	۴
چربی‌دوستی Log Po/w	۲	۱/۳۰	۰/۷۹
انحلال‌پذیری در آب(Log S (ESOL	انحلال‌پذیر	انحلال‌پذیر	انحلال‌پذیر
جذب دستگاه گوارش	پایین	بالا	بالا
دسترسی سنتتیک	۵/۰۱	۳/۵۱	۳/۱۷
نفوذ در سد خونی–مغزی	خیر	خیر	خیر
Lipinski	بله	بله	بله
Ghose	بله	بله	بله

جدول ۴: نتایج تست سمیت سه ترکیب منتخب.

ترکیب ویژگی مورد بررسی	اریودیکتین	تاکسیفولین	الاژیک اسید
سرطان‌زایی	-	-	-
مسدودکننده hERG	-	-	-
آسیب به چشم	-	-	-
جهش‌زایی	-	+	-
مهارکننده P-گلیکوپروتئین	-	-	-
سوبسترای P-گلیکوپروتئین	-	-	-
سمیت کبدی	-	-	-
حساسیت پوست	-	+	-
گیرنده هیدروکربنی آریل (۴۳)	-	+	-
گیرنده آندروژن (AR)	-	-	-
آروماتاز	-	+	-
گیرنده استروژن آلفا (ER)	-	+	-



شکل ۱: نمایش سه‌بعدی که ساختار آنزیم آسپارتیل پروتئاز ترشحی-۵ (SAP 5) ترشحی *C. albicans* را با شناسه PDB 2QZX نشان می‌دهد. ناحیه بنفش رنگ نشان‌دهنده موقعیت جایگاه فعال آنزیم است.



شکل۲: نمای سه بعدی و دو بعدی برهمکنش بین سه ترکیب منتخب گیاه آویشن باغی و ترکیب کنترل پپستاتین با پروتئین SAP 5.

بحث

پژوهش‌های قبل نشان دهنده خاصیت ضد کاندیدایی گیاه آویشن باغی بر علیه *Candida albicans* بوده است(۱۷). یکی از پروتیئن‌های مهم در بیماری‌زایی این مخمر، آنزیم آسپارتیل پروتئاز ترشحی شماره ۵(SAP-5) می‌باشد(۲ و ۱). بنابراین، احتمالاً یکی از مکانیسم‌های ضد کاندیدایی گیاه آویشن از طریق مهار این پروتئین است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات زیستی گیاه آویشن باغی(*Thymus vulgaris* L.) با آسپارتیل پروتئاز ترشحی-۵ مخمر *Candida albicans*، برای یافتن ترکیبات احتمالی مهار کننده این آنزیم بود.

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ترکیبات منتخب گیاه آویشن باغی میل پیوندی خوبی در اتصال به جایگاه فعال آنزیم SAP5 دارند. با توجه به اهمیت SAP5 در ویرولانس این انگل می‌توان این طور نتیجه گرفت که این ترکیبات، به عنوان نامزدهای درمان عفونت‌های کاندیدا آلبیکنس می‌توانند مد نظر قرار گیرند. در میان این ترکیبات، Ellagic Acid و Eriodictin به دلیل داشتن میل اتصال بیشتر و نداشتن سمیت، گزینه‌های دارویی بهتری برای پژوهش‌های آینده هستند.

مخزن جمع‌آوری‌شده داده‌های ماکرومولکولی در بانک داده‌های پروتئین(PDB)، منبع ارزشمندی برای کاربرد سیستم‌های محاسباتی، به‌ویژه در حوزه پیش‌بینی برهمکنش‌های لیگاند با پروتئین‌های هدف ایجاد کرده است. علاوه بر این، یک بستر قوی را برای بررسی‌ها در حوزه توسعه و طراحی دارو به ارمغان آورده است. امروزه مدل‌های پیشرفته برای بررسی‌های in silico نقشی محوری را ایفا می‌کنند و به طور قابل‌توجهی ظرفیت ارزیابی را در حوزه فارماکولوژی افزایش می‌دهند. در میان این ابزارهای تحلیلی، داکینگ مولکولی در میکروبیولوژی امکان قابل توجهی را در اکتشاف اهداف پروتئینی در میکروارگانیسم‌ها و تشخیص مولکول‌هایی که با تمایلات بالایی با این اهداف برهمکنش می‌کنند، ایجاد می‌کند. این رویکرد به دقت و کارایی تلاش‌های پژوهش‌هایی در تعامل پیچیده ماکرومولکول‌های بیولوژیکی کمک می‌کند(۴۲ و ۴۱).

در مطالعه کنونی، از نرم‌افزار AutoDock Vina برای تعیین میل ترکیبی ترکیبات *Thymus vulgaris Linn*. برای برهمکنش با رزیدوهای داخل جایگاه فعال پروتئین هدف استفاده شد. دلیل استفاده از این نرم‌افزار راحتی، سرعت و دقت بالای پردازش آن بود. داروی کنترل مورد استفاده در این پژوهش پپستاتین بود که یک مهار کننده قوی آسپارتیل پروتئازی است و به وسیله باکتری‌ها سنتز می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ترکیبات منتخب گیاه آویشن باغی میل پیوندی بالایی با آنزیم SAP5 دارند. همان طور که پیشتر بیان شد، SAP5 نقش مهمی در ویرولانس این مخمر دارد. در نتیجه، یکی از مکانیسم‌های احتمالی اثر مهاری گیاه آویشن باغی بر کاندیدا آلبیکنس احتمالاً از طریق مهار SAP5 به وسیله ترکیبات این گیاه می‌باشد. در میان این ترکیبات Ellagic Acid و Eriodictin به دلیل

داشتن میل اتصال بیشتر و نداشتن سمیت، گزینه‌های دارویی بهتری برای پژوهش‌های بیشتر در آینده هستند. در مطالعه‌ای که به وسیله جاتبخش و همکاران انجام شده است نشان داده شد که Ellagic Acid توانایی مهار رشد کاندیدا البیکنس و تشکیل بیوفیلم‌های آن را داشت(۴۳). در یک تحقیق دیگر اثر Ellagic Acid بر سویه‌های مقاوم به داروی کاندیدا اوریس بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که Ellagic Acid علاوه بر کاندیدا اوریس توانایی از بین بردن کاندیدا آلبیکنس را نیز دارد. علاوه بر این، این فلاونوئید توانایی افزایش طول عمر نماتودهای آلوده به کاندیدا آلبیکنس را از خود نشان داد. شاید یکی از مکانیسم‌هایی که این فلاونوئید در مهار کاندیدا البیکنس دارد، از طریق مهار SAP5 می‌باشد(۴۴).

تصویرسازی برهم کنش‌های بین لیگاندها و پروتئین هدف به کمک نرم‌افزار BIOVIA Discovery Studio Visualizer نشان داد که ترکیبات Ellagic Acid و Eriodictin با آمینواسیدهای متعدد در پروتئین هدف، پیوند برقرار می‌کنند. این پیوندها شامل؛ پیوندهای هیدروژنی، الکترواستاتیک و هیدروفوب هستند. ترکیب Ellagic Acid با چهار آمینواسید پروتئین SAP 5 پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. این آمینواسیدها عبارتند از؛ GLY85، ASP32، TYR225 در دو موقعیت و ASP86. هم‌چنین ترکیب Ellagic Acid با آمینواسید ASP86 پیوند الکترواستاتیک نوع Pi-Anion در سه موقعیت ایجاد می‌کند، نکته مهم این است که تمامی این آمینواسیدها در جایگاه فعال پروتئین قرار دارند.

ترکیب Eriodictin با سه آمینواسید پروتئین THR222، TYR225 و ARG299، پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند.علاوه بر این، ترکیب Eriodictin با دو آمینواسید ASP86 و ASP218 پیوند الکترواستاتیک نوع Pi-Anion نیز ایجاد می‌کند. هم‌چنین ترکیب Eriodictin با دو آمینواسید ILE12 و ILE223 پیوند هیدروفوب نوع آلکیل با فاصله‌های به ترتیب ۴۴۰۹۳/۴ و ۳۴۵۹۲/۵ آنگستروم نیز ایجاد می‌کند. در این میان این آمینواسیدها ILE12، ILE223 و ARG299 در جایگاه فعال پروتئین SAP5 قرار ندارند، ولی بقیه آمینواسیدهای مذکور در جایگاه فعال پروتئین قرار دارند. این یافته‌ها با پژوهش‌های پیشین هم‌خوانی دارد، به طوری که در پژوهش‌های قبلی نیز مشخص شده است که این اسیدهای آمینه نقش کلیدی در برهمکنش با لیگاندهای مشابه ایفا می‌کنند و در پایداری کمپلکس پروتئین-لیگاند سهم قابل توجهی دارند(۴۷-۴۵).

ترکیب کنترل Pepstatin در آمینواسید TYR225 با پروتئین هدف پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند، ترکیب‌های Eriodictin و Ellagic Acid نیز با این آمینواسید پیوند هیدروژنی برقرار می‌کنند. هم‌چنین همان‌طور که Pepstatin در آمینواسید ARG299، THR222 و ARG299 با پروتئین پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند، ترکیب Eriodictin نیز با این آمینواسیدها پیوند هیدروژنی دارد. علاوه بر این، هر دو ترکیب Eriodictin و Pepstatin در برقراری پیوند هیدروفوب آلکیلی با آمینواسید ILE12 اشتراک دارند. به طور کلی، اکثر برهم‌کنش‌های مشاهده‌شده میان لیگاندها و

آمینواسیدهای پروتئین در جایگاه‌های فعال آنزیم رخ می‌دهند(۴۸ و ۴۶، ۴۵)، که نشان‌دهنده اهمیت این نواحی در اتصال لیگاندها و اثرات بیولوژیکی آنها است. علاوه براین، Eriodictin به عنوان یکی اعضای گروه فلاونوئیدها و زیر گروه فلاون‌ها شناخته می‌شود(۴۹). مطالعه حاضر نشان داد که Eriodictin علاوه بر این که با اسیدهای آمینه جایگاه فعال پیوند برقرار می‌کند، می‌تواند با برخی از اسیدهای آمینه در خارج از جایگاه فعال نیز پیوند دهد. این پیوندهای خارج از جایگاه فعال احتمالاً می‌تواند فعالیت مهاری این ترکیب را تغییر دهد. از سوی دیگر بررسی‌های قبل نشان داده‌اند که ترکیبات فلاون قادر به مهار کاندیدا آلبیکنس در محیط In Vitro هستند(۵۰ و ۴۵). بنابراین، می توان امیدوار بود Eriodictin نیز به عنوان یک فلاون بر آنزیم SAP5 اثر مهاری داشته باشد و تغییر احتمالی فعالیت آنزیم به وسیله Eriodictin به سمت افزایش اثرات بازدارندگی آن باشد. با این حال پژوهش‌های بیشتر به ویژه بررسی‌های دینامیک ملکولی و پژوهش‌ها در محیط In Vitro می‌تواند درستی یا نادرستی این فرضیه را در آینده مشخص نماید.

نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا با نتایج دانشمندان دیگر در محیط In vitro می‌باشد که نشان دهنده اثرات مهاری مرزنجوش بر کاندیدا آلبیکنس می‌باشند. مطالعه اکبری و همکاران نشان داد که عصاره تام متانولی آویشن توانایی مهار رشد گونه‌های کاندیدا البیکنس مقاوم به فلوکونازول را در محیط In vitro دارد(۱۸). هم‌چنین در مطالعه‌ای که به وسیله باج و همکاران در مورد بررسی اثرات چنیدن عصاره گیاهی از جمله آویشن باغی صورت گرفت، محققان دریافتند که آویشن باغی قادر به مهار سویه‌های مرجع کاندیدا البیکنس و هم‌چنین سویه‌های ایزوله شده از حفره دهانی بود(۱۹). در پژوهشی دیگر محققان اثرات عصاره آویشن را بر بر روی برخی از پاتوژن‌های دهانی از جمله باکتری های استرپتوکوکوس پیوژنز و پورفیرومواناس ژنژیوالیس و نیز مخمر کاندیدا آلبیکنس را بررسی کردند. نتایج پژوهش نشان داد که آویشن باغی در غلظت‌های ۱۶ تا ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، فعالیت مهاری قوی بر روی تمام سویه‌ها با مناطق بازدارندگی ۷/۵ تا ۴۲ میلی‌متر، داشت (۵۱). در مطالعه‌ای که به وسیله جفری و همکاران انجام شد، محققان به بررسی اثر آویشن باغی و تیمول بر بیوفیلم‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس و *Candida tropicalis* پرداختند، نتایج این مطالعه نیز هم‌رستا با مطالعه حاضر بود و آویشن باغی قادر به تجزیه بیوفیلم‌های کاندیدا آلبیکنس بود(۱۷). هم‌چنین در یک مطالعه کارآزمایی بالینی محققان دریافتند که استفاده مداوم از اسانس ۲ درصد آویشن، به طور قابل توجهی تعداد کلونی کاندیدا آلبیکنس را در پلاک‌های متحرک ارتودنسی کاهش می‌دهد(۵۲).

با وجود این که بررسی‌های داکینگ ابزاری مفید برای پیش‌بینی تعامل بین لیگاند و پروتئین هدف است، با این حال، این روش دارای محدودیت‌هایی

است و به تنهایی نمی تواند اثرات یک ماده را بـه طـور کامـل پـیش‌بینـی کنـد. بنـابراین، پیشـنهاد مـی‌شـود داده‌های حاصل از این آزمـایش در آزمـایش‌هـای in vivo و in vitro در تحقیقـات آینـده بررسـی شـوند. هم‌چنین پیشنهاد مـی‌شـود بـا توجـه بـه ویژگـی‌هـای ویرولانس سایر SAPها، مطالعه داکینگ ترکیبات گیـاه آویشن باغی با سایر آنزیم‌های این گـروه نیـز انجـام شود.

نتیجه گیری

داده‌های به دسـت آمـده از ایـن تحقیـق نشـان داد کـه احتمـالاً برخـی از ترکیبـات موجـود در گیـاه آویشن بـاغی، مـی‌تواننـد آنـزیم SAP-5 را در مخمـر *Candida albicans* *مهار کنند*. با توجـه بـه ایـن کـه ایـن پـروتئین نقـش مهمـی در بیمـاری‌زایـی مخمـر دارد، مـی‌تـوان چنـین نتیجـه گرفـت کـه شـاید یکـی از مکانیسم‌هایی که گیاه آویشن باغی به وسیله آن اثرات ضد کاندیدایی خود را اعمال مـی‌کنـد، از طریـق مهـار پروتئین SAP-5 است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می دانند از مجموعـه علمی دانشگاه تبریز جهـت همکـاری در ایـن پـژوهش تقدیر و تشکر به عمل آورند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کننـد هـیچ‌گونـه تعـارض منافعی وجود ندارد.

حمایت مالی

ایـن مقالـــه حاصـــل طـــرح تحقیقـــاتی مصـــوب دانشگاه تبریز بوده است، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام گرفت.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعـه بـر گرفتـه از طـرح پژوهشی بـا کـد اخـلاق IR.TABRIZU.REC.1403.038 از دانشـگاه تبریز می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

طراحی تحقیق و تصحیح مقاله به وسیله دکتـر جعفـر رزم آرا انجـام شـده اسـت. دکتـر امیـر عبـاس برزگری و دکتـر سـپیده پرویزپـور در نگـارش مقالـه نقش داشته‌انـد. هـم‌چنـین مـیلاد زارع انجـام کارهـای بیوانفورماتیکی و نگارش بخشی از مقاله را در تحقیـق حاضر به عهده داشته است.

REFERENCES

1.Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. Nature Reviews Disease Primers 2018; 4(1): 1-20.
2.Schaller M, Januschke E, Schackert C, Woerle B, Korting HC. Different isoforms of secreted aspartyl proteinases(Sap) are expressed by *Candida albicans* during oral and cutaneous candidosis in vivo. Journal of Medical Microbiology 2001; 50(8): 743-7.
3.A Braga-Silva L, LS Santos A. Aspartic protease inhibitors as potential anti-*Candida albicans* drugs: impacts on fungal biology, virulence and pathogenesis. Current Medicinal Chemistry 2011; 18(16): 2401-19.
4.Gnat S, Łagowski D, Nowakiewicz A, Dyląg M. A global view on fungal infections in humans and animals: opportunistic infections and microsporidioses. Journal of Applied Microbiology 2021; 131(5): 2095-113.
5.Sardi J, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida A, Mendes Giannini MJS. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. Journal of Medical Microbiology 2013; 62(1): 10-24.
6.Moran G, Coleman D, Sullivan D. An introduction to the medically important Candida species. In: Calderone R.A., Clancy C.J. (Editors). Candida and Candidiasis. 2nd ed. ASM Press; 2011: 9-25.
7.Staniszewska M. Virulence factors in Candida species. Current Protein and Peptide Science 2020; 21(3): 313-23.
8.Clayton YM, Noble WC. Observations on the epidemiology of *Candida albicans*. J Clin Pathol 1966; 19(1): 76-8.
9.Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control - An update. Microb Pathog 2018; 117: 128-38.
10.Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. Virulence 2014; 5(1): 161-9.
11.Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, et al. *Candida albicans*-The virulence factors and clinical manifestations of infection. J Fungi(Basel) 2021; 7(2):79
12.Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev 2003; 67(3): 400-28.
13.Wu H, Downs D, Ghosh K, Ghosh AK, Staib P, Monod M, Tang J. *Candida albicans* secreted aspartic proteases 4-6 induce apoptosis of epithelial cells by a novel Trojan horse mechanism. Faseb J 2013; 27(6): 2132-44.
14.Chen YC, Wu CC, Chung WL, Lee FJS. Differential secretion of Sap4–6 proteins in *Candida albicans* during hyphae formation. Microbiology 2002; 148(11): 3743-54.
15.Stahl-Biskup E, Venskutonis RP. 27 - Thyme. In: Peter KV(editor). Handbook of Herbs and Spices (Second Edition): Woodhead Publishing; 2012; 499-525.
16.Patil SM, Ramu R, Shirahatti PS, Shivamallu C, Amachawadi RG. A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. Heliyon 2021; 7(5): e07054.
17.Jafri H, Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. Journal de Mycologie Médicale 2020; 30(1): 100911.
18.Akbari S. Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. against fluconazol-resistant and susceptible *Candida albicans* isolates. Journal of Medicinal Plants 2007; 6(21): 53-62.
19.Baj T, Biernasiuk A, Wróbel R, Malm A. Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils

towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. Open Chemistry 2020; 18(1): 108-18.
20.Blanc AR, Sortino MA, Butassi E, Svetaz LA. Synergistic effects of *Thymus vulgaris* essential oil in combination with antifungal agents and inhibition of virulence factors of *Candida albicans*. Phytomedicine Plus 2023; 3(4): 100481.
21.Arendrup MC, Patterson TF. Multidrug-resistant candida: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. The Journal of Infectious Diseases 2017; 216(suppl_3): S445-S51.
22.Ksiezopolska E, Gabaldón T. Evolutionary emergence of drug resistance in candida opportunistic pathogens. Genes(Basel) 2018; 9(9); 461.
23.Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. Chem Rev 2021; 121(6): 3390-411.
24.Costa-de-Oliveira S, Rodrigues AG. *Candida albicans* antifungal resistance and tolerance in bloodstream infections: the triad yeast-host-antifungal. Microorganisms 2020; 8(2): 154.
25.Rivera J, Loya A, Ceballos R. Use of herbal medicines and implications for conventional drug therapy medical sciences. Altern Integ Med 2013; 2(6): 1-6.
26.Fang J, Liu C, Wang Q, Lin P, Cheng F. In silico polypharmacology of natural products. Brief Bioinform 2018; 19(6): 1153-71.
27.Ahammad F, Tengku Abd Rashid TR, Mohamed M, Tanbin S, Ahmad Fuad FA. Contemporary strategies and current trends in designing antiviral drugs against dengue fever via targeting host-based approaches. Microorganisms 2019; 7(9): 296.
28.Dhanasekaran S, Pushparaj Selvadoss P, Sundar Manoharan S, Jeyabalan S, Devi Rajeswari V. Revealing anti-fungal potential of plant-derived bioactive therapeutics in targeting secreted aspartyl proteinase (SAP) of *Candida albicans*: a molecular dynamics approach. J Biomol Struct Dyn 2024; 42(2): 710-24.
29.Silva DR, Sardi JCO, Freires IA, Silva ACB, Rosalen PL. In silico approaches for screening molecular targets in *Candida albicans*: A proteomic insight into drug discovery and development. Eur J Pharmacol 2019; 842: 64-9.
30.Borelli C, Ruge E, Lee JH, Schaller M, Vogelsang A, Monod M, et al. X-ray structures of Sap1 and Sap5: Structural comparison of the secreted aspartic proteinases from *Candida albicans*. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 2008; 72(4): 1308-19.
31.Dallakyan S, Olson AJ. Small-molecule library screening by docking with PyRx. In: Hempel JE, Williams CH, Hong CC(editors). Chemical Biology: Methods and Protocols. New York, NY: Springer New York; 2015; 243-50.
32.Bhagyashree L J, Sachin HR. Drug Designing in Discovery Studio. Asian J Research Chem 2021; 14(2): 135-138.
33.Corradi V, Mancini M, Santucci MA, Carlomagno T, Sanfelice D, Mori M, et al. Computational techniques are valuable tools for the discovery of protein-protein interaction inhibitors: the 14-3-3σ case. Bioorg Med Chem Lett 2011; 21(22): 6867-71.
34.Sutter J, Li J, Maynard AJ, Goupil A, Luu T, Nadassy K. New features that improve the pharmacophore tools from Accelrys. Curr Comput Aided Drug Des 2011; 7(3): 173-80.
35.Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep 2017; 7: 42717.
36.Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. Nucleic Acids Res 2021; 49(W1): W5-w14.
37.Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Research 2018; 46(W1): W257-W63.

38.Rutz A, Sorokina M, Galgonek J, Mietchen D, Willighagen E, Gaudry A, et al. The LOTUS initiative for open knowledge management in natural products research. ELife 2022; 11: e70780.
39.Zhao H, Yang Y, Wang S, Yang X, Zhou K, Xu C, et al. NPASS database update 2023: quantitative natural product activity and species source database for biomedical research. Nucleic Acids Research 2022; 51(D1): D621-D8.
40.Reichel A, Lienau P. Pharmacokinetics in drug discovery: an exposure-centred approach to optimising and predicting drug efficacy and safety. Handb Exp Pharmacol 2016; 232: 235-60.
41.Agu PC, Afiukwa CA, Orji OU, Ezeh EM, Ofoke IH, Ogbu CO, et al. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. Scientific Reports 2023; 13(1): 13398.
42.Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. Int J Mol Sci 2019; 20(18): 4331.
43.Nejatbakhsh S, Ilkhanizadeh-Qomi M, Razzaghi-Abyaneh M, Jahanshiri Z. The effects of ellagic acid on growth and biofilm formation of *Candida albicans*. Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases 2020; 8(1): 14-8.
44.Possamai Rossatto FC, Tharmalingam N, Escobar IE, d'Azevedo PA, Zimmer KR, Mylonakis E. Antifungal activity of the phenolic compounds ellagic acid (EA) and caffeic acid phenethyl ester(cape) against drug-resistant candida auris. J Fungi(Basel) 2021; 7(9): 763.
45.Ivanov M, Kannan A, Stojković DS, Glamočlija J, Calhelha RC, Ferreira IC, et al. Flavones, flavonols, and glycosylated derivatives—Impact on *Candida albicans* growth and virulence, expression of cdr1 and erg11, cytotoxicity. Pharmaceuticals 2020; 14(1): 27.
46.Meenambiga S, Venkataraghavan R, Biswal RA. In silico analysis of plant phytochemicals against secreted aspartic proteinase enzyme of *Candida albicans*. Journal of Applied Pharmaceutical Science 2018; 8(11): 140-50.
47.Flamandita D, Sahlan M, Lischer K, Pratami DK. Molecular docking analysis of anti-candida albicans biomarkers in sulawesi propolis against secreted aspartic proteinase-5: Proceeding of international conference on engineering technologies and applied sciences (ICETAS); 2019: IEEE . Kuala Lumpur, Malaysia
48.Borelli C, Ruge E, Lee JH, Schaller M, Vogelsang A, Monod M, et al. X-ray structures of Sap1 and Sap5: structural comparison of the secreted aspartic proteinases from *Candida albicans*. Proteins 2008; 72(4): 1308-19.
49.Alam F, Mohammadin K, Shafique Z, Amjad ST, Asad MHHb. Citrus flavonoids as potential therapeutic agents: A review. Phytotherapy Research 2022; 36(4): 1417-41.
50.Seleem D, Pardi V, Murata RM. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-*Candida albicans* activity in vitro. Archives of Oral Biology 2017; 76: 76-83.
51.Fani M, Kohanteb J. In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. J Evid Based Complementary Altern Med 2017; 22(4): 660-6.
52.Naseri N, Kalantari Khandani A, Baherimoghadam T, Kalantari Khandani A, Hamedani S, Nouripour-Sisakht S, et al. The effect of *Thymus vulgaris* essential oil and chlorhexidine on *Candida albicans* accumulated on removable orthodontic appliance: a clinical trial. J Dent(Shiraz) 2022; 23(1 Suppl): 190-7.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Molecular Docking of *Thymus Vulgaris* Biochemical Against *Candida Albicans* Secreted Aspartyl Protease 5 to Find Possible Inhibitory Compounds

Zare M[1], Razmara J[2], Parvizpour S[3], Barzegari AM[4*]

[1]Master of Microbial Biotechnology, University of Maragheh, Maragheh, Iran, [2]Department of Computer Science, University of Tabriz, Tabriz, [3]Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology, Biomedical Research Institute, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, [4]Department of Biology, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Received: 07 Apr 2024 Accepted: 07 Oct 2024

Abstract

Background & aim: Despite being considered a common yeast among humans, *Candida albicans* can become an invasive agent under certain conditions and cause various types of acute or chronic infections. The use of existing antifungal drugs is limited due to their side effects and the resistance of this yeast to them. Previous in vitro studies have demonstrated that thyme plant possesses antifungal properties and its metabolites have the ability to kill the candida strains resistant to azole antifungal drugs. Secreted aspartyl protease 5 (SAP5) plays a crucial role in the pathogenicity of this yeast. Therefore, the aim of the present study was to determine and investigate the molecular docking of biological compounds of garden thyme (L. Thymus vulgaris) with secreted aspartyl protease-5 of *Candida albicans* yeast to find possible inhibitory compounds.

Methods: In the present molecular docking study conducted in 2024, the active phytochemical compounds of the *Thymus vulgaris* plant were obtained from the LOTUS and NPASS databases. The structure of the SAP5 protein was retrieved from the RCSB PDB database. Molecular docking of ligands with the SAP5 enzyme was performed using AutoDock Vina in the PyRx 0.8 software package to calculate binding energies and determine the docking position of each compound in its interaction with SAP5. The compounds with the best binding energy to the target protein were further evaluated for pharmacokinetic properties and toxicity, and the selected ligands were visualized using BIOVIA Discovery Studio. The collected data were analyzed using different software and compared with the results of previous articles in this field.

Results: The binding energies of *Thymus vulgaris* compounds to the active site of the SAP5 enzyme ranged from -9.9 to -3.4 kcal/mol. The highest binding affinities to the active site were observed for the compounds Eriodictin, (-)-Taxifolin, and Ellagic Acid. These compounds also demonstrated favorable pharmacokinetic and toxicity profiles. Pharmacokinetic studies of three selected compounds using the SwissADME online server showed their promising medicinal properties. Despite this, investigating their toxicity using ADMETlab and ProTox-II servers showed the toxicity of eriodictin.

Conclusion: The results of the present study indicated that some compounds in thyme plant may inhibit SAP5. Therefore, probably one of the mechanisms involved in the anti-candidal effects of garden thyme on *Candida albicans* yeast is through the inhibition of this protein.

Keywords: Thymus plant, *Candida albicans*, Pharmacokinetics, Molecular docking

***Corresponding author: Barzegari AM**, Department of Biology, University of Maragheh, Maragheh, Iran
Email: Barzegaridoctora@gmail.com

Please cite this article as follows: Zare M, Razmara J, Parvizpour S, Barzegari AM. Molecular Docking of *Thymus Vulgaris* Biochemical Against *Candida Albicans* Secreted Aspartyl Protease 5 to Find Possible Inhibitory Compounds. Armaghane-danesh 2024; 29(4): 610-627.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal