

ÇİNKO FİTALOSİYANİNİN SARS COV-2 MPRO'DA MOLEKÜLER DOCKİNG YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI: İN SİLİCO ÇALIŞMA

Erkan ÖNER

Doktora Öğrencisi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Biyokimya Bölümü, erkanoner0803@gmail.com, Mersin/Türkiye, 0000-0002-6332-6484

İlter DEMİRHAN

Dr.Öğr.Üyesi, Harran Üniversitesi, SHMYO, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, ilterdemirhan@gmail.com, Şanlıurfa/Türkiye, 0000-0003-0054-7893

Seda ERGÜN

Doktora Öğrencisi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Bölümü, seda-2703@hotmail.com, 0000-0002-0679-8143

Ergül Belge KURUTAŞ

Prof.Dr, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Bölümü, K.Maraş/Türkiye, ergulkurutas@gmail.com, 0000-0002-6653-4801

Serap YALIN

Prof.Dr, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Bölümü, Mersin/Türkiye syalin01@hotmailmail.com, 0000-0002-1286-2172

Öz

Dünyada ve ülkemizde koronavirüs hastalığı birçok insanın ölümüne neden olmuştur. Beklenmedik bu olumsuz sağlık terörü ülkeleri zor durumda bırakmıştır. Bu araştırma ile SARS-CoV-2 ana proteazına (MPro) karşı çinko ftalosiyanın'ın (ZnPc) in silico yöntemle araştırılması amaçlandı. Araştırmamızda Zn-Pc, PDB ID:6LU7 ile SARS-CoV-2 MPro reseptörünün aktif bölgesini hedef alması sağlandı. Autodock programı ile moleküler yerleştirme çalışması yapılmıştır. Moleküler kenetlenme sonucu -10.6 kcal/mol bulundu. Araştırmadan elde edilen sonuçlar, Zn-Pc'in SARS CoV-2 MPro inhibitörü olma potansiyelinin oldukça yüksek olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Sars-Cov-2 Ana Proteaz, Moleküler Docking, Çinko Fitalosiyanın

INVESTIGATION of ZINC PHTHALOCYANİNE-1 IN SARS COV-2 MPRO by MOLECULAR DOCKING METHOD: IN SILICO STUDY

Abstract

The coronavirus disease has caused the death of many people in the world and in our country. This unexpected negative health terror has left countries in a difficult situation. In this study, it was aimed to investigate Zinc Phthalocyanine (ZnPc) against SARS-CoV-2 main protease (MPro) by in silico method. In our research, Zn-Pc was enabled to target the active site of the SARS-CoV-2 MPro receptor with PDB ID:6LU7. Molecular docking study was done with Autodock program. The result of molecular docking was found to be -10.6 kcal/mol. The results obtained from the study showed that Zn-Pc has a very high potential to be an inhibitor of SARS CoV-2 MPro. Key Words: Sars-Cov-2 Main Protease, Molecular Docking, Zinc Phthalocyanine

Keywords: Sars-Cov-2 Master Protease, Molecular Docking, Zinc Phthalocyanine

1. GİRİŞ

SARS-CoV-2 ilk olarak 2019'un sonunda tanındı ve salgını, daha önceki koronavirüslere göre daha yüksek kontaminasyon oranı, yayılma kapasitesi ve öldürücülük indeksi nedeniyle tüm dünyadaki insanları etkileyen küresel bir pandemiye neden oldu (1, 2, 3). COVID -19'un gelişimine karşı en savunmasız hastalar, yüksek tansiyon, obezite, kalp hastalıkları, solunum problemleri ve neoplazi gibi komorbiditeleri olan yaşlı insanlardır. Bu nedenle, Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, SARS-CoV-2'nin yayılmasını kontrol etmek için erken ve doğru bir teşhis çok önemlidir, çünkü daha yüksek viral yük daha şiddetli hastalıklarla ilişkilidir (4, 5).

Ftalosiyanimler, nitrojen atomları ile birbirine bağlanmış dört indol biriminden oluşan sentetik ve aromatik düzlemsel porfirin makrosiklllerinin analoglarıdır ve çeşitli mikrobiyal patojenlerin iyi inaktivasyonunu göstermiştir (6, 7). Ayrıca, hassaslaştırıcı bir ilacın görünür ışıkla kombinasyonu ile virüslerin, bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların seçici olarak yok edilmesini teşvik edecek bekleyen boyalardır (8). Ftalosiyanimlerin biyolojik ve tıbbi uygulamalar için potansiyeli kabul edilmiştir (9, 10, 11, 12). Özellikle fotodinamik terapide, çünkü uyarılmış haldeki ftalosiyanimler, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu veya redoks işlemlerini teşvik edebilirken, ışığın yokluğunda bu tür özellikler gözlenmez. Son zamanlarda, araştırma grubumuz foto-uyarılma olmaksızın bir gargara protokolünde kullanılan bir anyonik ftalosiyanim türevinin umut verici performansını gözlemledi; bu protokol SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastaların genel klinik durumunu iyileştirdi (13, 14).

Bu çalışmanın amacı çinko ftalosiyanim(ZnPC)'in Sars Cov-2 Mpro yapısında moleküler docking yöntemiyle araştırılarak bağlanma affinitesini ve bağlanma yapısını ortaya çıkarmaktır.

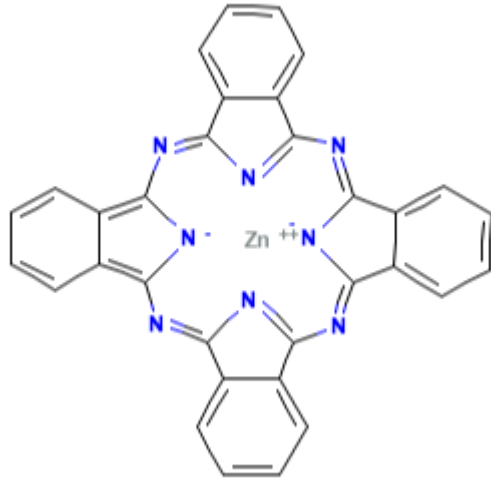
2. MATERYAL ve METOT

2.1. Moleküler modelleme yöntemi:

2.1.1.Ligand Sistemi

Çinko ftalosiyanim bileşiği (Şekil 1) PubChemden SDF formatında alındı. Open Babel GUI programında pdb formatına dönüştürüldü.

Şekil 1. Çinko ftalosiyaniminin kimyasal yapısı



2.1.2.Protein sistemi

Sars Cov-2 Mpro hedefi için (PDB ID: 6LU7) kristal yapısı, Protein Data Bank'tan elde edilmiştir (www.rcsb.org).

2.1.3. Moleküler Modelleme

Autodock 4.2.6 kullanılmıştır. Modelleme veri girişi dosyalarını oluşturmak için AutoDockTools programı kullanılmıştır. Tüm modellemelerde x, y, z yönlerinde 40x40x40 nokta boyutlarında

karelere ayrılmış bir küp oluşturulmuştur. 0.375 Å'luk bir uzunluk (karbon-karbon kovalent bağının yaklaşık dörtte biri uzunluğunda) ve dielektrik sabitinin mesafe bağımlı bir fonksiyonu eşlemelerin enerji hesaplanmasında kullanılmıştır. Lamarckian genetik algoritma mantığı kullanılarak 10 işlem yürütülmüştür. Başlangıç popülasyonu 50 olan rastgele yerleştirilmiş parçalar, maksimum 2.5×10^6 enerji değerleriyle ve maksimum 2.7×10^4 oluşumla kullanılmıştır. 0.02 mutasyon oranı ve 0.8 genetik değişim oranı seçilmiştir. Root mean square deviation (RMSD)'da 0.5 Å' dan daha az farklılık gösteren sonuçlar bir araya toplanmış ve bağlanmanın en uygun serbest enerjisinin sonuçları, nihai kompleks yapılar olarak seçilmiştir. Autodock Vına 1.1.2 (14) ve Discovery Studio 2020 programları kullanılarak ZnPc Sars Cov-2 Mpro hedef bölgesinde ligand-protein etkileşimleri incelendi (15).

2.1.4. Validasyon Metodu

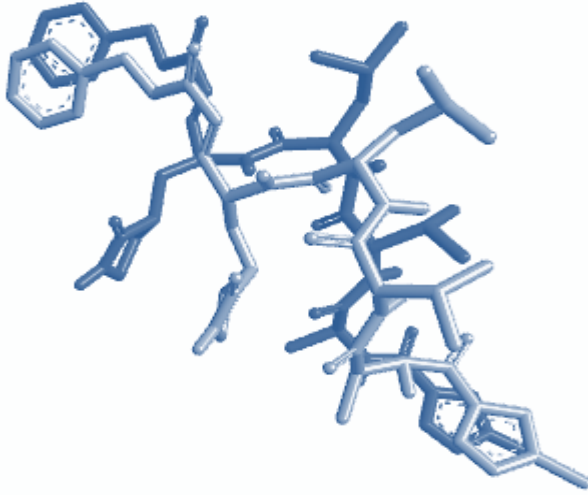
Sars Cov-2 inhibitör proteininden (PDB ID:6LU7'ye ait) N3 inhibitörü, AutoDock ile ekstre edildi. Yerleştirme, Sars cov-2 Mpro ligandı olan N3 inhibitörü eklenmeden gerçekleştirildi. Ayrıca, çalışmamızın geçerliliğini görmek için PyMOL'deki ortalama fark karesi (RMSD) değeri kontrol edildi. RMSD değeri 2,0 Å'den küçükse, yöntemin geçerli olduğunu gösterir (16).

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Validasyon Metodu Bulguları

Bağlanma affinitesinin gücünü ortaya çıkarmak için N3 inhibitörü ile yeniden doğrulama yapıldı. Doğrulamamızın sonucu Şekil 2'de gösterilmektedir.

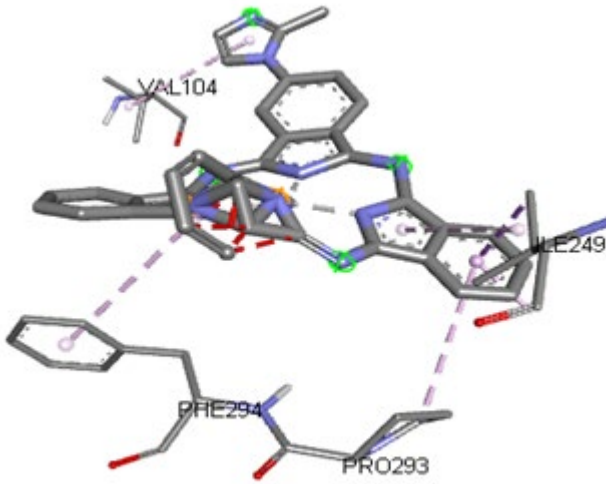
Şekil 2. Sars-Cov-2 MPro inhibitörü ile N3 inhibitörünün yeniden doğrulamadan önceki durumu (açık mavi), yerleştirmeden sonra N3 inhibitörünün durumu (koyu mavi)



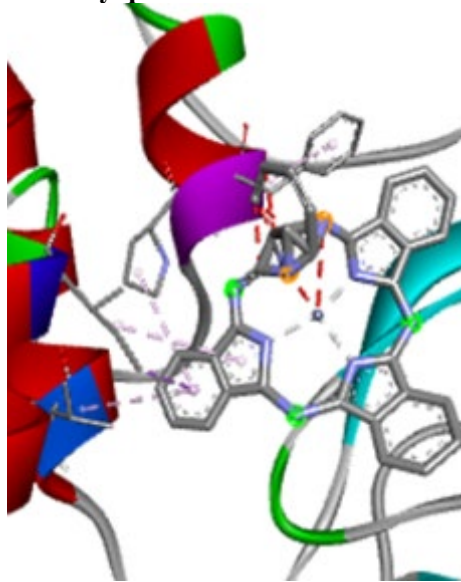
3.2. Moleküler Modelleme Bulguları

Araştırmamızda, Sars Cov-2 hedefi için çinko fitalosiyanın (ZnPc)'in bileşiği denenmiş ve COVID-19'da etkili olabileceği görülmüştür. Denediğimiz ZnPc bileşiğinin, Sars Cov-2 Mpro hedefinde -10.6 kcal/mol'lik bağlanma enerjisi ile güçlü bir inhibisyon kabiliyeti gösterdiği görülmektedir (Şekil.3 ve 4 ve Tablo.1).

Şekil 3. Zn-Pc bileşiğinin PDB ID: 6LU7 yapısındaki moleküler docking bağlanma modeli



Şekil 4. Zn-Pc bileşiğinin PDB ID:6LU7 yapısındaki moleküler modeli



Tablo 1. Zn-Pc bileşiğinin PDB ID: 6LU7 yapısındaki moleküler docking skorları

Docking Analiz Yazılımı	Görselleştirme Yazılımı	Protein	Ligand	Docking Skoru	Amino Asit Kalıntıları
Autodock Vina	3 D BIOVIA Discovery Studio Visualizer	6LU7	ZnPc	-10.6	VAL104, VAL202, ILE249, PRO293, PHE294

Yapılan çalışmalara bakıldığında ftalosiyanın antimikrobiyal (antiviral) ve anti-inflamatuar özelliklerini göstermiştir (8, 9, 10, 11).

de Fonseca ve ark. ftalosiyanın türevi bazlı bir gargaranın SARS-CoV-2 viral yükünü azaltmada umut verici bir etki gösterdiğini belirtti. Beş mililitre ftalosiyanın türevi ağız gargarası 2 hafta boyunca günde beş kez 1 dakika, hastalığın klinik semptomlarını azalttı (17).

Çalışmamız, Zn-Pc bileşiği Sars-Cov-2 Mpro yapısında yüksek bağlanma afinitesi gösterdi. Ayrıca yapılan RMSD analizinde, RMSD değerleri 2 Å'nin altında olan yerleştirme sonuçlarımızın doğruluğu, moleküler yerleştirme çalışması başarılı oldu. Bu çalışma ilk kez gerçekleştirilmiş olup

daha önce Sars Cov-2 hedefinde Zn-Pc bileşiği moleküler modelleme yöntemiyle çalışılmamıştır. Bu çalışma ile Zn-Pc bileşiği ve türevlerinin Sars Cov-2 hedefindeki çalışmalara öncülük edecektir.

Ftalosiyanın'in inhibisyon etkisinden sorumlu olan ana etkileşim hidrofobik yapısından kaynaklıdır. Ancak hidrojen bağları da dahil olmak üzere çok önemli polar etkileşimler, ikinci en güçlü molekül olan hiperisinin bu etkisinden sorumlu olduğu görünmektedir. Buna göre, ftalosiyanınin benzer bir boyuta ve çevrede hidrojen bağı etkileşimlerine eğilimli karboksilik asit gruplarına sahip olması nedeniyle, önfüzyon konformasyonunda iç sivri glikoprotein boşluğu ile ftalosiyanınin daha güçlü bir etkileşimi ve afinitesi beklenir. Sonuç olarak, ftalosiyanınin antiviral özellikleri, SARS-CoV-2 üzerindeki antagonistik etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. Bunun yanı sıra, ftalosiyanın aynı zamanda havadaki oksijen moleküllerini etkileşime sokma ve aktive etme kapasitesiyle de bilinir, bu da çok lokalize aktive edilmiş oksijen molekülleri üretimini indükler. Bu moleküller oksidatif strese/mikroorganizmalarda hasara neden olabilir, koronavirüs gibi, onların inaktivasyonuna yol açar.

KAYNAKÇA

1. Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., et al. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective cohort study. *Lancet*. 395,102-129.
2. Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., et al. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 395:102-124.
3. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., et al. (2020). China novel coronavirus investigating and research team a novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 382-388.
4. Magleby, R., Westblade, LF., Trzebucki, A., Simon, MS., Rajan, M., Park, J., et al. (2020). Impact of SARS-CoV-2 viral load on risk of intubation and mortality among hospitalized patients with coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis.* 2:851.
5. <https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-covid-19>. Accessed: 30 Jan 2021.
6. Schuster, C., Kraus, M., Opiteb, A., Brütting, W., Eckern, U. (2010). Transport properties of copper phthalocyanine based organic electronic devices. *Eur. Phys. J. Spec. Topics*. 180:117-134. doi: 10.1140/epjst/e2010-01214-3. [CrossRef] [Google Scholar]
7. Nyamu, SN., Ombaka, L., Masika, E., Nganga, M. (2018). Antimicrobial photodynamic activity of phthalocyanine derivatives. *Adv. Chem.* 2:259-262.
8. Moussaron, A., Arnoux, P., Vanderesse, R., Sibille, E., Chaimbault, P., Frochet, C. (2013). Lipophilic phthalocyanines for their potential interest in photodynamic therapy: Synthesis and photo-physical properties. *Tetrahedron*. 69(47):10116-10122.
9. Heugebaert, TS., Roman, BI., Stevens, CV. (2012). Synthesis of isoindoles and related iso-condensed heteroaromatic pyrroles. *Chem. Soc. Rev.* 41(17):5626-5640.
10. Encinar, JA., Menendez, JA. (2020). Potential drugs targeting early innate immune evasion of SARS-coronavirus 2 via 2'-O-methylation of viral RNA. *Viruses*. 12(5):525.
11. Romeo, A., Iacovelli, F., Falconi, M. (2020). Targeting the SARS-CoV-2 spike glycoprotein prefusion conformation: Virtual screening and molecular dynamics simulations applied to the identification of potential fusion inhibitors. *Virus Res.* 286:19-68.
12. da Fonseca, OB., Vilhena, FV., Cardoso de Oliveira, R., da Costa, M., Alves, L., Araki, K., et al. (2021). A phthalocyanine derivate mouthwash to gargling/rinsing as an option to reduce clinical symptoms of COVID-19: Case series. *Clin. Cosmet. Investig. Dent.* 13:47-50.
13. Orcina, BF., Santos, PSS. (2021). Oral manifestation COVID-19 and the rapid resolution of symptoms post-phthalox treatment: A case series. *Int. J. Odontostomat.* 15(1):67-70.
14. Trott, O., Olson, A.J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem.* 31:455-461.
15. Laskowski, R.A. (1995). A program for visualizing molecular surfaces, cavities, and intermolecular interactions. *J Mol Graph.* 13:323-330.

16. Bell, E.W. & Zhang, Y. (2019). DockRMSD: an opensource tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*, 11(1), 40. doi:10.1186/s13321-019-0362-7
17. da Fonseca, OB., Vilhena, FV., Cardoso de Oliveira, R., et al. (2021). COVID-19'un klinik semptomlarını azaltmak için bir seçenek olarak gargara/durulama amaçlı bir ftalosiyanin türevi gargara: Vaka serisi. *Clin Cosmet Araştırma Dent*. 13 : 47-50