

APER
TO

Catechina e curcumina interagiscono con la proteina S del SARS-CoV2 e ACE2 della membrana cellulare umana: intuizioni da studi computazionali

Atala B. Jena¹, Namrata Kanungo², Vinayak Nayak², G. B. N. Chainy² & Jagdishwar Dandapat^{1,2}✉

La recente epidemia di coronavirus (SARS-CoV2) rappresenta una minaccia senza precedenti per la salute umana e la società in tutto il mondo. In questo contesto, lo sviluppo di interventi adeguati è la necessità del momento. La proteina spike virale (S Protein) e il recettore cognato della cellula ospite ACE2 possono essere considerati come un'arma di difesa.

come bersagli efficaci e appropriati per gli interventi. Dal presente studio computazionale risulta evidente che la catechina e la curcumina non solo presentano una forte affinità di legame con la proteina S virale e con il recettore dell'ospite ACE2, ma anche con il loro complesso (dominio legante il recettore (RBD) della proteina spike del SARS-CoV2 e ACE2; complesso RBD/ACE2). I valori di affinità di legame della catechina e della curcumina per la proteina S, l'ACE2 e il complesso RBD/ACE2 sono rispettivamente - 10,5 e - 7,9 kcal/mol; - 8,9 e - 7,8 kcal/mol; e - 9,1 e - 7,6 kcal/mol. La curcumina si lega direttamente al dominio di legame del recettore (RBD) di

virale della proteina S. Lo studio di simulazione molecolare su un periodo di 100 ns dimostra ulteriormente che tale interazione all'interno del sito RBD della proteina S si verifica durante 40-100 ns su 100 ns di traiettoria di simulazione. Al contrario, la catechina si lega ai residui aminoacidici presenti vicino al sito RBD della proteina S e provoca fluttuazioni nei residui aminoacidici del sito RBD e nelle sue immediate vicinanze. Sia la catechina che la curcumina si legano all'interfaccia del "complesso RBD/ACE2" e intervengono nel provocare la fluttuazione delle eliche alfa e dei filamenti beta del complesso proteico. Studi di interazione proteina-proteina in presenza

di curcumina o catechina confermano i risultati di cui sopra, suggerendo l'efficacia di questi due polifenoli nell'ostacolare la formazione del complesso proteina S-ACE2. In conclusione, questo studio computazionale prevede per la prima volta la possibilità di utilizzare i due polifenoli sopra citati come strategia terapeutica contro la SARS-CoV2.

Il SARS-CoV2, un virus a RNA avvolto a singolo filamento con senso positivo appartenente alla famiglia dei *Coronaviridae*, è fonte di preoccupazione a livello [mondiale](#)^{1,2}. L'OMS ha dichiarato l'epidemia come pandemica a causa dell'alto tasso di trasmissione, della rapida diffusione in diversi Paesi e dell'indisponibilità di vaccini o farmaci specifici per il [trattamento](#)³. Dal punto di vista filogenetico, il SARS CoV2 appartiene all'ordine dei [Nidovirales](#)⁴ ed è raggruppato sotto la categoria dei Beta coronavirus, con un genoma di circa 30 kilobasi, che codifica per diverse [proteine](#) strutturali e accessorie^{4,5}. La morfologia generale dei coronavirus comprende diverse proteine strutturali come la proteina spike (S), la proteina envelope (E), la proteina di membrana (M) e la proteina nucleocapside (N)⁶. Il virus Corona invade le cellule umane attraverso il legame della sua proteina spike di superficie (glicoproteina in natura) con una proteina recettore (Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2)) presente sulla membrana delle cellule umane. Ciò media l'attaccamento al recettore e la fusione della membrana della cellula virale-ospite (Fig. 1). La proteina S è una proteina transmembrana con terminali N-exo e C-endo. La subunità S₁ terminale N contiene il Receptor Binding Domain (RBD), mentre la subunità S₂ terminale C induce la fusione di [membrana](#)⁷ (Fig. S1 supplementare). La fusione del virus con le cellule umane è dovuta al legame della subunità S₁ della proteina virale S con i [recettori](#) delle cellule umane^{7,8}. D'altra parte, in seguito all'endocitosi del virus, la subunità S₂, caratterizzata da regioni Heptad Repeats (HR), si assembla in una struttura elicoidale intra-hairpin con un fascio di sei eliche.

¹Centro di eccellenza in omica integrata e biologia computazionale, Utkal University, Bhubaneswar 751004, Odisha, India. ²Dipartimento post-laurea di Biotecnologia, Utkal University, Bhubaneswar 751004, Odisha, India. ✉ email: jdandapat.nou@gmail.com

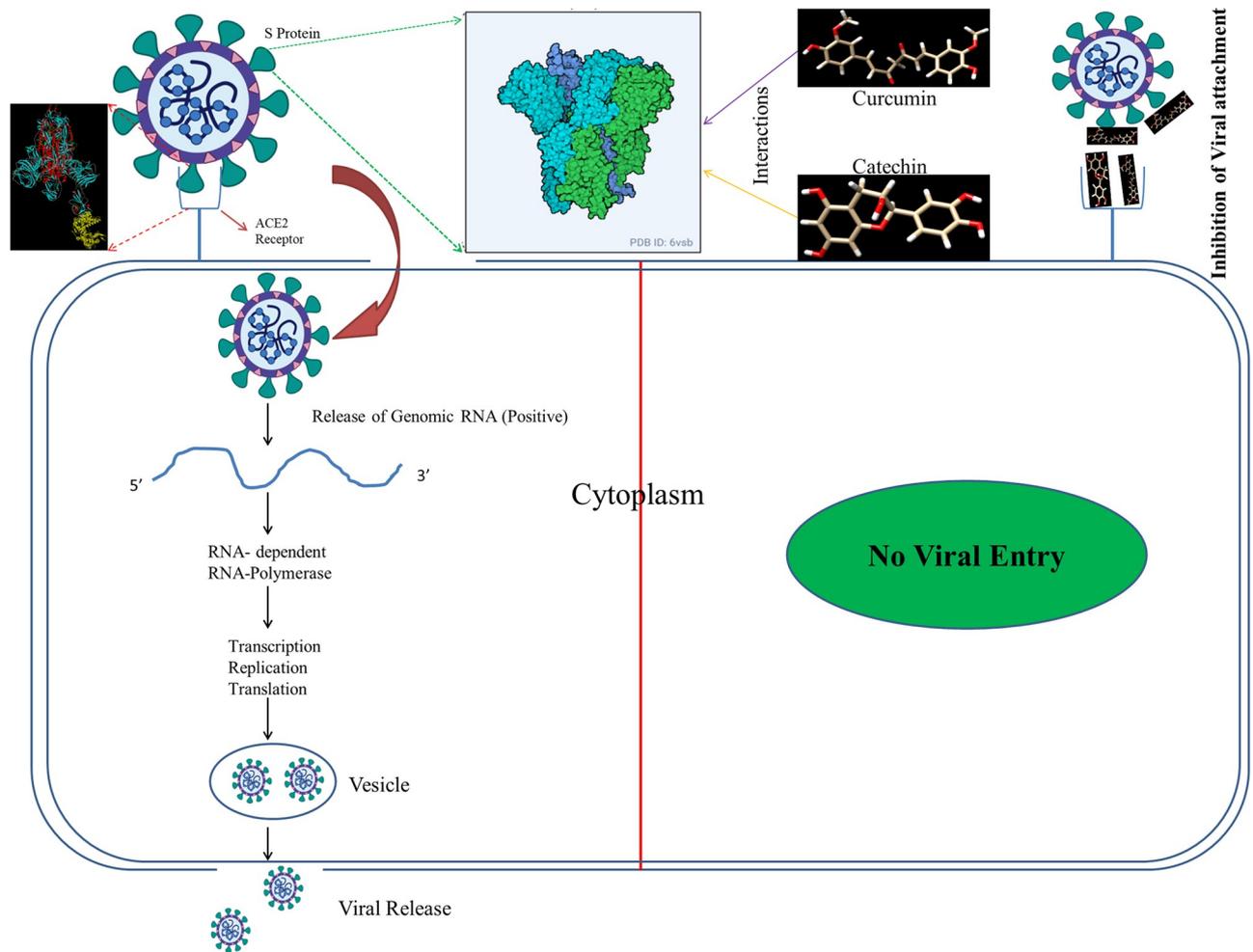


Figura 1. Rappresentazione grafica del legame della proteina S virale con il recettore cellulare ACE2. La presenza di catechina e curcumina inibisce l'interazione tra la proteina S e l'ACE2, impedendo l'ingresso del virus.

promuove il processo di fusione della membrana all'interno della cellula [ospite](#)^{9,10}. Recentemente, è stato riportato che il dominio di legame al recettore della proteina S del SARS-CoV2 è più o meno simile a quello del SARS-CoV, nonostante la variazione aminoacidica in alcuni residui [chiave](#)². Ciò suggerisce che il virus può colpire anche l'ACE2, una proteina monomerica legata alla membrana delle cellule [umane](#)^{11,12}. Pertanto, si presume che anche ACE2, il recettore cognato del virus corona presente sulla membrana cellulare delle cellule ospiti, possa essere un bersaglio specifico per impedire l'ingresso del [virus](#)¹³.

Diversi studi recenti hanno suggerito che i composti polifenolici naturali come le catechine (GTC; catechine del tè verde) e la curcumina (diferuloilmetano; dalla curcuma) hanno attività antivirali contro un ampio spettro di virus come il virus dell'immunodeficienza umana (HIV), il virus dell'herpes simplex, il virus dell'influenza, i virus dell'epatite B e C (rispettivamente HBV e HCV)¹⁴, l'[adenovirus](#)¹⁵ e il virus della chikungunya (CHIKV)¹⁶. Sono stati suggeriti diversi meccanismi per spiegare le attività antivirali di entrambi i composti polifenolici. Ad esempio, è stato documentato che i GTC sono un potenziale soppressore dell'ingresso virale e della sua [replicazione](#)¹⁷⁻²¹, mentre la curcumina si è dimostrata un potente inibitore della monofosfato deidrogenasi, un enzima che limita il tasso di sintesi de novo del [nucleotide](#) di guanina²². Inoltre, è stato osservato che i GTC e la curcumina inibiscono l'espressione dell'ACE2, come risulta da studi su [animali](#)^{23,24}.

Sebbene sia stato riportato che la catechina e la curcumina si legano a diverse proteine di origine virale e umana, non ci sono molte informazioni sull'interazione dei polifenoli con la proteina S del coronavirus e il suo recettore cognato, ACE2, delle cellule ospiti. Con queste premesse, il presente studio è stato concepito per esaminare l'interazione di catechina e curcumina con la proteina S del virus e il suo recettore cognato ACE2 delle cellule ospiti, utilizzando metodi computazionali. Gli approcci computazionali (docking e simulazione molecolare) sono la prima e principale scelta degli scienziati per prevedere le modalità di legame e le affinità apparenti dei ligandi con le macromolecole prima degli studi sperimentali, che sono in effetti costosi e richiedono [tempo](#)²⁵. Inoltre, il miglioramento della velocità, dell'affidabilità e dell'accuratezza dei metodi di docking computazionale negli ultimi anni li ha resi una scelta adeguata per progettare farmaci basati sulla [struttura](#)^{26,27}. Il presente studio incorpora i risultati del docking molecolare di catechina e curcumina con la proteina S del virus corona e con l'ACE2 delle cellule ospiti, un recettore cognato per la proteina S virale. Inoltre, le affinità di legame e gli studi di simulazione molecolare della catechina e della curcumina con il "complesso RBD/ACE2" indicano che entrambi i polifenoli causano una notevole alterazione della struttura

Materiali e metodi

Analisi della sequenza. La struttura Cryo-EM della proteina S della SARS-CoV2 (PDB ID-6vsb) e la struttura a raggi X della proteina S della SARS-CoV2 (PDB ID-6vsb), struttura di ACE2 (PDB ID-1r42) con risoluzione di 3,46 Å e 2,2 Å, rispettivamente, sono stati recuperati da Database PDB. La struttura Cryo-EM del "complesso RBD/ACE2" (PDB ID-6LZG) (RBD della proteina S con ACE2) con risoluzione 2,50 Å è stata ottenuta dal database PDB. La struttura del complesso è fondamentalmente composta da due polipeptidi, la catena-A (enzima di conversione dell'angiotensina con 596 residui aminoacidici) e la catena-B (glicoproteina Spike con 209 residui aminoacidici). La sequenza FASTA della proteina S di 2019-nCoV, HCoV-229E, MERS-CoV, HCoV-NL63, SARS-CoV è stata recuperata per l'analisi di allineamento di sequenze multiple. I risultati dell'allineamento di SARS-CoV2 hanno mostrato che tutte e tre le catene della proteina S hanno sequenze aminoacidiche identiche. Pertanto, solo una catena è stata presa in considerazione per l'analisi della struttura secondaria e la previsione delle proprietà fisico-chimiche.

Docking proteina-proteina. Per l'analisi di docking tra proteine S Protein e ACE2 in presenza e in assenza di curcumina e catechina è stato utilizzato uno strumento di docking automatico a corpo rigido, **clusPro2**.⁰²⁸ Questo strumento aiuta a vagliare le conformazioni agganciate in base alle loro proprietà di raggruppamento, prendendo in considerazione diverse proteine. parametri. La selezione delle conformazioni filtrate si è basata sulla valutazione dell'energia libera empirica. Per la valutazione dell'energia libera sono state prese in considerazione sia le energie di desolvatazione che quelle elettrostatiche più basse. ClusPro è accessibile all'indirizzo <https://cluspro.bu.edu/publications.php>. Piper, uno strumento di docking rigido basato su FFT, serve il programma di clustering ClusPro per individuare i siti nativi fornendo 1000 risultati a bassa energia.

Analisi di docking molecolare della proteina S, dell'ACE2 e del "complesso RBD/ACE2" con catechina e curcumina. Valutazione dell'energia libera di legame della proteina S, dell'ACE2 e del "complesso RBD/ACE2" con la catechina. e la curcumina è stata effettuata tramite il programma di docking molecolare AutoDock Tools 1.5.6. Gli id SMILES canonici della catechina (catechina-galocatechina-catechina) e della curcumina sono stati ottenuti dal database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). La conversione in strutture 3D è stata effettuata con CHIMERA 1.11.²²⁹ L'affinità di legame della proteina S, dell'ACE2 e del "complesso RBD/ACE2" con la catechina e la curcumina è stata esaminata con Auto Dock Vina 1.1.²³⁰ Per riconoscere il sito di legame della proteina S, dell'ACE2 e del "complesso RBD/ACE2" sono stati studiati vari parametri come l'affinità di legame, l'atomo che interagisce con il recettore, l'atomo della tasca recettoriale, il sito di interazione con il ligando recettoriale, l'energia atomica di contatto (ACE) e i residui aminoacidici laterali. I risultati degli studi di docking sono stati visualizzati e analizzati con Discovery Studio 2017 R2 ^{Client31}.

Analisi di simulazione molecolare. Le strutture 2D chimicamente non standardizzate dei ligandi, della catechina e della curcumina, sono state prese dal database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). I file dei ligandi possono essere trasformati in strutture 3D adeguatamente standardizzate ed estrapolate da ^{LigPrep32}. LigPrep svolge un ruolo fondamentale conversione delle strutture 3D in strutture a energia ridotta che possono essere utilizzate da ^{Glide33}. Questa minimizzazione delle strutture viene effettuata utilizzando il campo di forza OPLS3e. Ogni struttura in ingresso genera più strutture in uscita a causa delle diverse stereochimiche, stati di protonazione, tautomeri e conformazioni dell'anello. Nel file di output del ligando vengono fornite specifiche per la produzione di una conformazione dell'anello a bassa energia per ogni ligando. Il modulo Grid-based Ligand Docking with Energetics (GLIDE) del software Schrodinger è stato utilizzato per la formazione del complesso proteina S-curcumina e proteina S-catechina. Anche la catechina e la curcumina sono state complessate singolarmente con il "complesso RBD/ACE2". Il software Desmond è stato utilizzato per effettuare simulazioni di dinamica molecolare, studi di Root Mean Square Deviations (RMSD) e di fluttuazione atomica tramite Root Mean Square Fluctuation (RMSF). Per condurre simulazioni di solventi espliciti con condizioni marginali periodiche, sono stati utilizzati diversi strumenti, come cubo, orto-rombo, ottaedro tronco, dodecaedro rombico e altre scatole di simulazione arbitrarie. Prima del ciclo di produzione di 100 ns, è stato condotto un ciclo di stabilizzazione in 8 fasi, che comprende in primo luogo l'attività, poi le simulazioni in dinamica browniana con NVT a T = 10 K, piccoli passi temporali, vincoli sugli atomi pesanti del soluto per 100 ps e successivamente la ripetizione della fase precedente ma con vincoli sugli atomi pesanti del soluto per 12 ps. Lo stadio 4 è stato condotto in modo simile al precedente a NPT invece che a NVT, seguito da un focus sulla tasca del soluto. Lo stadio 6 è uguale a quello dello stadio 4. La fase successiva prevedeva la simulazione a NPT per 24 ps senza vincoli. Infine, sono state effettuate le simulazioni.

In questo studio, le simulazioni MD sono state condotte in particolare per i primi due hit identificati per analizzare la

stabilità del complesso ligando-recettore per 100 ns. La stabilità dei complessi agganciati 2019-nCoV spike glycoprotein-curcumin e 2019-nCoV spike glycoprotein-catechin è stata simulata fino a un tempo di simulazione di 100 ns eseguendo simulazioni di dinamica molecolare (MD) utilizzando il system builder di ^{Desmond34} implementato in ^{Maestro35} con il campo di forza OPLS3e. Le simulazioni sono state condotte anche per entrambi i ligandi con il "complesso RBD/ACE2". Il sistema per 'S Protein-curcumin' e 'S Protein-catechin' è stato immerso in una scatola cubica piena d'acqua con spaziatura di 10 Å contenente 63.985 (circa) molecole d'acqua con il system builder di Desmond nel programma Maestro. Allo stesso modo, per il 'complesso RBD/ACE2' con catechina e curcumina sono state prese circa 26.850 molecole d'acqua utilizzando la carica semplice estesa (SPC). La neutralizzazione del complesso agganciato è stata effettuata aggiungendo 4 ioni Na^+ (concentrazione di 1,137 mM) al sistema per la proteina S e la curcumina. 6 ioni Na^+ (concentrazione 1,706

mM) sono stati aggiunti per la neutralizzazione di S Protein e catechina. Allo stesso modo, sono stati aggiunti 23 ioni Na^+ (concentrazione di 15,575 mM) e 21 ioni Na^+ (concentrazione di 14,206 mM) per la neutralizzazione del "complesso RBD/ACE2" rispettivamente per la catechina e la curcumina.

Il metodo MM-GBSA (Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area) è stato adottato per il calcolo delle energie libere di legame della catechina e della curcumina con la proteina S e il "complesso RBD/ACE2", rispettivamente. Il valore più negativo indica un legame più forte, poiché il MM-GBSA è un indice dell'energia libera di legame. Il modulo ^{Prime36} è stato utilizzato per calcolare l'energia libera di legame MM-GBSA in una traiettoria equilibrata di dinamica molecolare. La diminuzione dell'energia potenziale durante i 100 ns nel caso di catechina-S Protein, curcumina-S

Macromolecola	Posizioni vincolanti	Energia più bassa (kJ/mol)	Energia media minima (kJ/mol)
Proteina S-ACE2	1	- 928.9	- 901.2
Proteina S-ACE2	2	- 923	
Proteina S-ACE2	3	- 902.4	
Proteina S-ACE2	4	- 853.3	
Proteina S-ACE2	5	- 898.4	
Proteina S con curcumina-ACE2	1	- 799.2	- 759.54
Proteina S con curcumina-ACE2	2	- 744	
Proteina S con curcumina-ACE2	3	- 759	
Proteina S con curcumina-ACE2	4	- 755	
Proteina S con curcumina-ACE2	5	- 740.5	
S Proteina con catechina-ACE2	1	- 799.2	- 759.54
S Proteina con catechina-ACE2	2	- 744	
S Proteina con catechina-ACE2	3	- 759	
S Proteina con catechina-ACE2	4	- 755	
S Proteina con catechina-ACE2	5	- 740.5	

Tabella 1. Interazione proteina-proteina che mostra le 5 energie di legame più basse per il complesso S Protein-ACE2 in presenza o in assenza di curcumina e catechina.

I complessi proteici hanno rivelato che il sistema è stabile. L'analisi delle diverse conformazioni acquisite durante il periodo di simulazione di 100 ns è stata effettuata. Per il calcolo della variazione media dello spostamento degli atomi selezionati in un particolare fotogramma rispetto al fotogramma di riferimento, viene stimata la deviazione quadratica media (RMSD) per la proteina e il ligando per una traiettoria di simulazione di 100 ns.

Per comprendere l'andamento dello sganciamento di entrambe le proteine, la catena A (enzima di conversione dell'angiotensina 2) e la catena B (RBD della glicoproteina Spike) e per analizzare la consistenza di tali andamenti in presenza di catechina o curcumina, abbiamo effettuato un'analisi qualitativa delle interazioni non vincolanti tagliando ogni 5 ns fotogrammi dalla traiettoria della dinamica molecolare di 100 ns.

Risultati e discussione

Analisi strutturale. La previsione della struttura secondaria della proteina S di SARS-CoV2 è stata effettuata utilizzando

SOPMA (Self Optimised Prediction Method with Alignment). La proteina S contiene 1288 residui aa, tra cui... 350 α -eliche (27,17%), 312 β -giri (9,08%) e 509 spire casuali (39,52%). Attraverso ExPASy ProtParam, il numero totale di residui con carica negativa (Asp + Glu) e positiva (Arg + Lys) è stato determinato in 112 e 100, rispettivamente. L'indice alifatico è risultato pari a 81,58. Il GRAVY (Grand Average of Hydropathicity) ha ottenuto un punteggio di - 0,163. L'indice di instabilità è stato calcolato a 31,58. Queste caratteristiche classificano la proteina S del SARS-CoV2 come una struttura stabile. Gli studi computazionali hanno inoltre rivelato che l'emivita della proteina S è massima nei mammiferi (reticolociti di mammifero - 30 h) rispetto al lievito (> 20 h) e ai batteri (*E. Coli* - > 10 h).

Allineamento della struttura. SARS-CoV2 e SARS-CoV sono stati valutati da TM-align (<https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/TM-align/>) per studi strutturali comparativi. Questi due virus sono stati considerati per la sovrapposizione struttura-struttura a causa della massima somiglianza di sequenza. Attraverso l'allineamento strutturale è stato osservato che il SARS-CoV2 e il SARS-CoV differiscono solo nel frammento RBD e la parte restante della struttura è identica (Fig. S2 supplementare). È risultato evidente che il SARS-CoV è un antenato del nuovo virus in ascesa SARS-CoV2. Tuttavia, sono stati notati alcuni cambiamenti nel frammento RBD del SARS-CoV2 rispetto al SARS-CoV. I risultati confermano uno studio [precedente](#).

Docking proteina-proteina. In base al valore RMSD totale, i migliori 10 modelli di docking con diverse energie libere sono stati ottenuti dal server web ClusPro. Di questi, abbiamo analizzato 5 modelli di docking ClusPro che sono stati selezionati in base alla probabilità di S Protein, S Protein con curcumina e S Protein con catechina a

interagiscono con i siti di legame previsti dell'ACE2 con l'energia di legame più bassa durante tali interazioni. L'energia di legame media di tutte le 5 posizioni di legame per l'interazione proteina S-ACE2 in assenza di curcumina o catechina è - 901,2 kJ/mol (Fig. S16 supplementare). Tuttavia, l'energia di legame media per la proteina S-ACE2 in presenza di uno dei due polifenoli sopracitati è di - 759,54 kJ/mol (Tabella 1, Figg. 2, 3, 4).

È stato osservato che durante l'interazione proteina-proteina l'energia di legame della proteina S-ACE2 diminuisce in presenza dei fitocomposti (curcumina o catechina). È stata osservata una diminuzione significativa di 141,66 kJ/mol dell'energia di legame durante l'interazione della proteina S-ACE2 in presenza di curcumina o catechina rispetto al loro legame diretto. Si può quindi presumere che entrambi i composti siano in grado di ostacolare il legame del sito RBD della proteina S con la proteina recettoriale ACE2. Ciò aprirebbe di fatto la strada all'utilizzo della curcumina o della catechina nella riproposizione/progettazione di una terapia

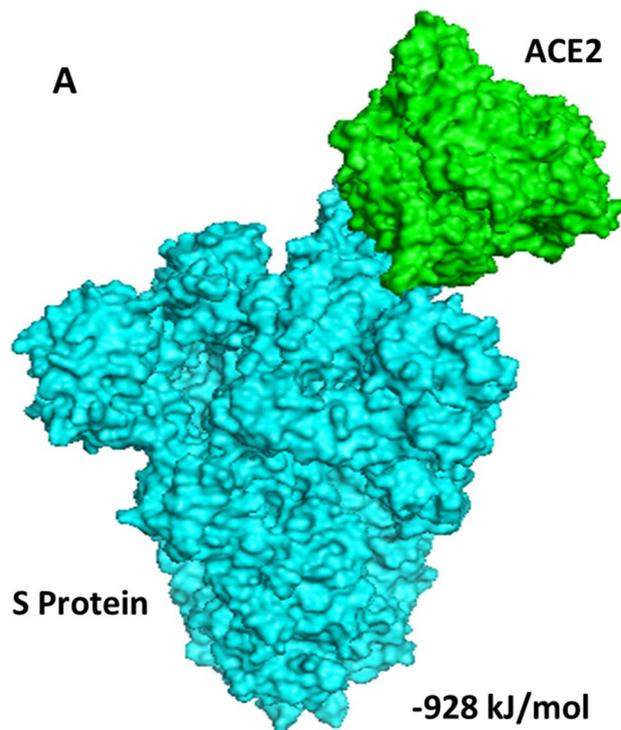


Figura 2. Modello di Docked che illustra l'interazione della proteina S con il recettore ACE2 in assenza di polifenoli.

Analisi di docking molecolare e simulazione. Le modalità di legame della catechina e della curcumina con la proteina S e con l'ACE2 sono state studiate con Auto DockVina 1.1.2. L'energia di legame della proteina S con la catechina e la curcumina è risultata rispettivamente di - 10,5 kcal/mol e - 7,9 kcal/mol (Tabella 2). L'affinità di legame

della curcumina con l'ACE2 è risultata pari a - 7,8 kcal/mol, mentre quella della catechina è risultata pari a - 8,9 kcal/mol (Tabella 3). Allo stesso modo, la catechina e la curcumina hanno rispettivamente - 9,1 kcal/mol e - 7,6 kcal/mol di affinità di legame verso il "complesso RBD/ACE2" (Tabella 4). Dai punteggi di docking, si può dedurre che sia la catechina che la curcumina hanno una forte affinità di legame per la proteina S, l'ACE2 e il "complesso RBD/ACE2". Gli aminoacidi che partecipano alla formazione di diversi legami chimici (come la forza di van der Waals, i legami idrogeno convenzionali e i legami carbonio-idrogeno) con la catechina o la curcumina differiscono tra le proteine e il loro complesso (Figg. 5, 6, Figg. supplementari S3, S4, S8 e S9). D'altra parte, le indagini di docking molecolare hanno suggerito che l'affinità di legame della catechina per la proteina S, l'ACE2 e anche il "complesso RBD/ACE2" è superiore a quella della curcumina.

I risultati dei dati della simulazione molecolare gettano una luce sull'interazione della curcumina con la proteina S. La deviazione quadratica media (RMSD) del complesso proteina S-curcumina è aumentata per i primi 20 ns e poi è rimasta stabile fino a 100 ns durante la traiettoria di simulazione (Fig. S5 supplementare). I cambiamenti locali lungo la catena proteica sono stati caratterizzati attraverso la Root Mean Square Fluctuation (RMSF). Il grafico indica che la curcumina possiede la capacità di provocare la fluttuazione di tutti gli aminoacidi della proteina S (Fig. S6 supplementare). La Tabella S1 rappresenta le interazioni tra la proteina S e il ligando, che illustrano chiaramente il tempo di permanenza di specifici residui aminoacidici che partecipano al processo, compresi gli aminoacidi del sito RBD che mostrano una notevole interazione con la curcumina. Il gruppo cheto della curcumina presenta un'elevata affinità con Leu335 del sito RBD della proteina S, formando legami idrofobici. L'interazione con Leu335 del sito RBD della proteina S avviene per il 40% del tempo di simulazione (Fig. S7 supplementare). Gli studi di simulazione molecolare sono in buon accordo con gli studi di docking. I risultati suggeriscono che entrambi i polifenoli si legano alla proteina S con un'elevata energia di legame, tuttavia i loro siti di legame sulla proteina S differiscono notevolmente. La curcumina si lega direttamente alla RBD della proteina S mentre la catechina si lega alla prossimità della RBD della proteina S. Inoltre, la catechina provoca una maggiore fluttuazione dei residui aminoacidici vicino al sito RBD.

Il frammento RBD del SARS-CoV2 si estende da 319 a 591 ^{S-residui}³⁷. Dai nostri studi si deduce che La curcumina si lega direttamente agli aminoacidi di questa regione Leu546, Gly548, Phe541, Asp571, Ala570, Thr572, Thr547, Thr573 mentre la catechina si lega alla proteina S in prossimità del frammento RBD ai residui Gln314, Glu309, Lys310, Gly311, Lys304, Tyr313, Thr302, Ile312, Leu303 e Ile312 (Tabella 2, Figg. suppl. S3 e S8).

La variazione media dello spostamento degli atomi in tutti i fotogrammi è stata registrata attraverso la Root Mean Square Deviation (RMSD) a intervalli di 10 ns. Sebbene l'energia di legame MM-GBSA massima per il

complesso proteina S-curcumina sia stata osservata - 58 kcal/mol a 0 e 20 ns, il valore minimo è stato registrato - 47 kcal/mol a 10 e 70 ns. D'altra parte, l'energia di legame MM-GBSA più alta e più bassa per il complesso proteina S-catechina è stata notata essere - 59 kcal/mol (a 30 ns) e - 20 kcal/mol (a 60 e 80 ns), rispettivamente (Fig. S14 supplementare). Totale

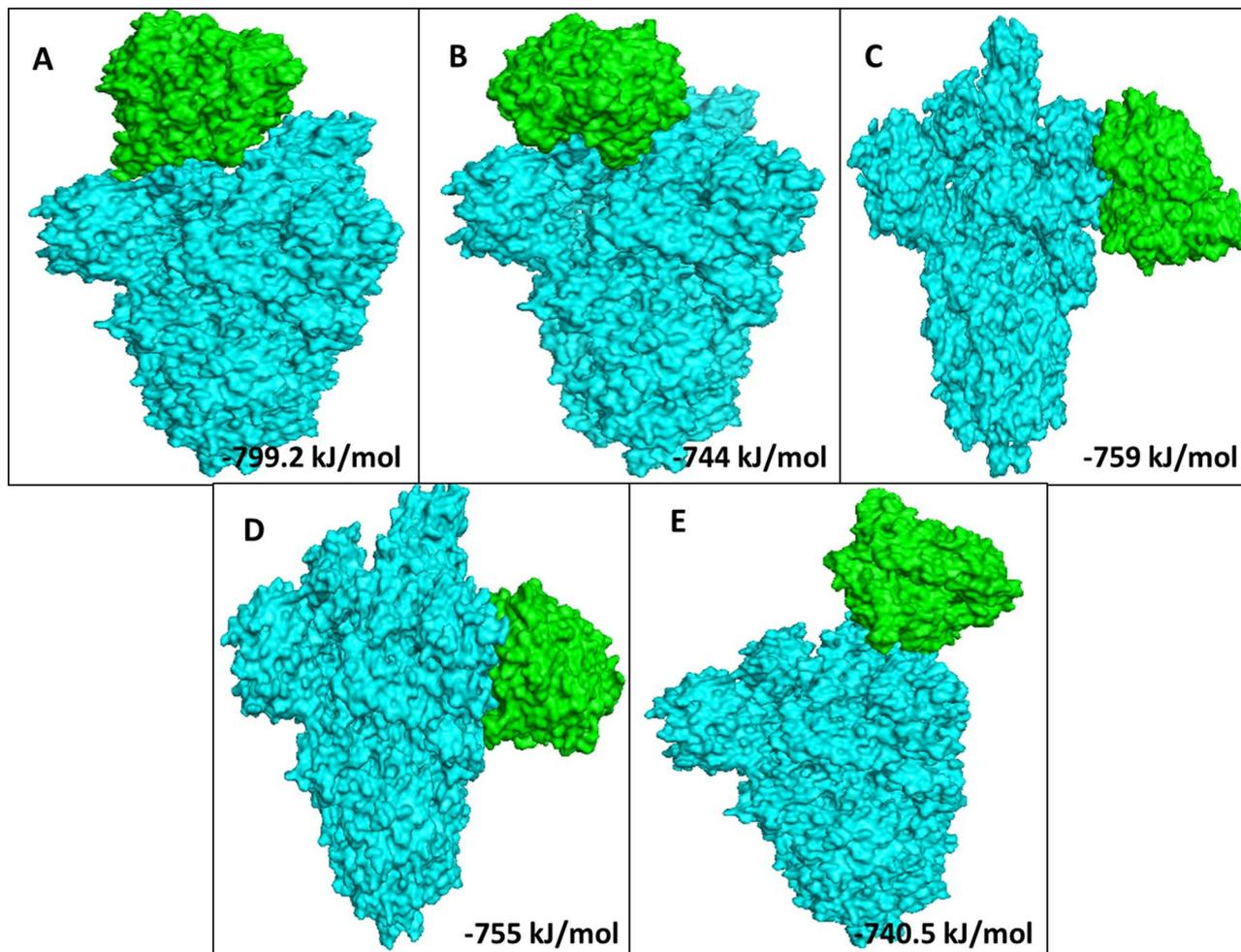


Figura 3. I 5 modelli top docked che mostrano l'interazione della proteina S con il recettore ACE2 in presenza di curcumina.

Il calcolo dell'energia libera MM-GBSA per entrambi i polifenoli con la proteina S indica un'energia di legame favorevole per la curcumina (- 53,63 kcal/mol) rispetto alla catechina (- 34,22 kcal/mol). L'RMSD medio di entrambi i complessi (complesso S Protein-catechina e complesso S Protein-curcumina) è stato registrato inferiore a 3 Å dopo la stabilizzazione dell'RMSD della S Protein. Al contrario, l'RMSD del complesso proteina S-catechina è stato inizialmente instabile per i primi 50 ns e si è poi stabilizzato per il resto del periodo di simulazione (Fig. S11 supplementare). La massima fluttuazione strutturale è stata osservata tra i 300 e i 500 residui amminoacidici e dopo i 1000 residui amminoacidici della proteina S (Fig. S10 supplementare). I dati sopra riportati confermano che l'interazione tra la proteina S e la catechina avviene con i residui amminoacidici della proteina S in prossimità del sito RBD (319 aa-591 aa)³⁷. I residui amminoacidici Arg634 e Val635 vicino al sito RBD della proteina S hanno una maggiore affinità verso il gruppo ossidrilico della catechina, rispettivamente con il 54% e il 35%, su una traiettoria di simulazione di 100 ns (Fig. S12 supplementare).

L'affinità di legame della curcumina con l'ACE2 è risultata pari a - 7,8 kcal/mol, mentre quella della catechina è risultata pari a - 8,9 kcal/mol. Il legame della curcumina o della catechina con l'ACE2 comprende legami idrogeno convenzionali, legami carbonio-idrogeno e interazioni Pi-Sigma. I residui amminoacidici della proteina che partecipano alle suddette interazioni variano per entrambi i ligandi (Figg. S4 e S9 e Tabella 3).

L'affinità di legame del complesso 'RBD/ACE2' con la curcumina e la catechina è risultata rispettivamente di - 7,6 kcal/mol e - 9,1 kcal/mol. I risultati della presente indagine suggeriscono che i residui amminoacidici di entrambi i componenti del 'complesso RBD/ACE2' che interagiscono con la catechina e la curcumina sono diversi. Mentre la curcumina si lega al recettore ACE-2 nel complesso attraverso interazioni van der Waals (Phe390, Asn33, Glu37, His34, Asp38, Lys353, Arg396, Pro389), la catechina interagisce con il recettore ACE2 nel complesso attraverso interazioni van der Waals (Arg559, Gln338, Ser536, Thr92, Leu29, Val93, Lys26, Asn33, Ala386 e His34), legami idrogeno convenzionali (Arg393, Glu37, Gln96), legame carbonio-idrogeno (Ala387), legame pi-alchilico (Pro389) e legame idrogeno pi donatore (Gln96). La curcumina è anche impegnata con il segmento della proteina S del complesso attraverso interazioni di van der Waals (Arg408, Gly416, Ile418, Tyr505, Gln493, Gly496, Tyr495, Arg403), legami idrogeno convenzionali (Gln409, Ser494) (Tabella 4), legame carbonio-idrogeno (Glu406); legame pi-alchilico (Lys417), legame donatore-donatore non falsificabile (Gln409) e legame idrogeno donatore pi greco (Tyr453). L'interazione della catechina con la regione della proteina S del complesso prevede interazioni di van der Waals (Gly416, Gln409, Asp405, Leu455, Tyr453), legami idrogeno convenzionali (Glu406, Arg408, Tyr505) e legame pi-alchilico (Lys417) (Tabella 4).

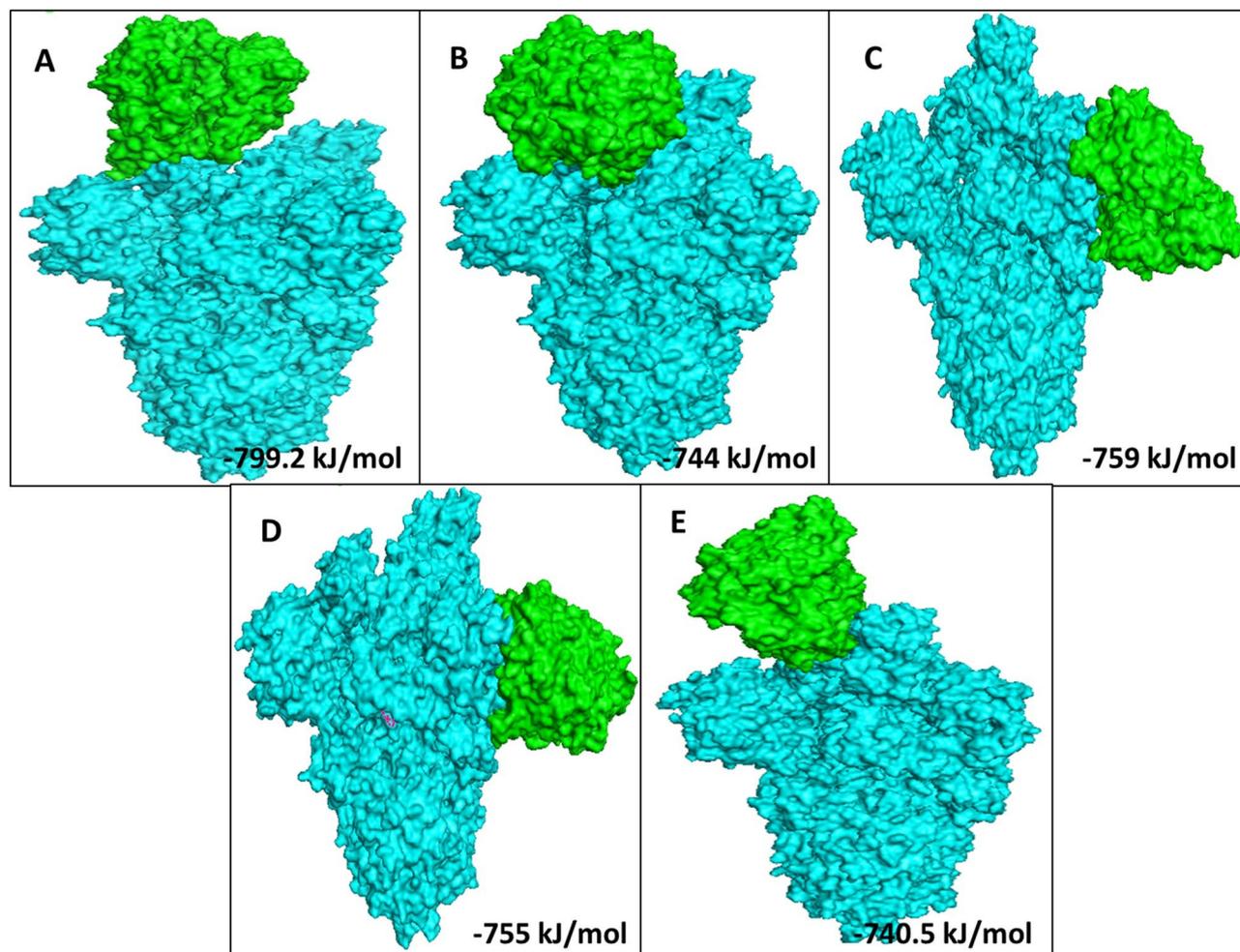


Figura 4. I 5 modelli top docked che mostrano l'interazione della proteina S con il recettore ACE2 in presenza di catechina.

Proteina-Ligando	Affinità di legame (kcal/mol)	Tipi di interazione	Nome dell'AA interagente; AA No;
S Proteina-curcumina	- 7.9	Van der waals	Leu546, Gly548, Phe541, Asn856, Leu997, Ser967, Asp571, Ala570, Val976, Thr572
		Legame a idrogeno convenzionale	Asp979, Thr547, Arg1000, Ser975
		Legame carbonio-idrogeno	Thr573, Asn978, Cys743
		Legame idrogeno pi-donatore	Thr573, Asn978, Cys743
		Pi-Sigma	Leu966
S Proteina-catechina	- 10.5	Van der waals	Gln314, Glu309, Lys310, Gly311, Ile664, Lys733, Leu861, Asp950, Gly769, Ala766, Lys304, Thr761
		Legame a idrogeno convenzionale	Tyr313, Thr768, Asn764, Thr302, Gln954, Asp775
		Legame carbonio-idrogeno	Ile312
		Pi-sigma	Thr768, Val772, Leu303
		Pi-cazione	Arg765
		Pi-alchile	Ile312, Pro665, Arg765

Tabella 2. Energia di legame, tipi di interazione e aminoacidi coinvolti nell'interazione della proteina S del SARS-CoV2 con curcumina e catechina.

I legami a idrogeno che si formano durante l'interazione della curcumina e della catechina con il "complesso RBD/ACE2" sono, rispettivamente, 3 e 7. Tali legami H si formano tra i residui aminoacidici del complesso proteico e i gruppi OH dei polifenoli. La catechina mostra un'elevata affinità di legame con il recettore grazie alla presenza di un maggior numero di gruppi OH funzionali. L'RMDS medio del complesso proteico (Proteina S e ACE2) con catechina e curcumina è stato calcolato rispettivamente in 1,8 Å (Fig. 7) e 2,0 Å (Fig. 8). L'entità della fluttuazione causata nel complesso proteico dal legame di catechina e curcumina è stata

rispettivamente di 3,3 Å e 4,2 Å. Altro,

Recettore-ligando	Affinità di legame (kcal/mol)	Tipi di interazione	Nome dell'AA interagente; AA No;
ACE2-curcumina	- 7.8	Van der waals	Leu591, Lys94, Asn210, Glu564, Glu280, Tyr207, Asp206, Gly205, Tyr196, Ala99, Lys562, Ala396
		Legame a idrogeno convenzionale	Gln102, Trp566
		Legame carbonio-idrogeno	Gln98
		Pi-alchile	Val209, Pro565, Val212
		Pi-sigma	Leu95
ACE2-catechina	- 8.9	Van der waals	Gly66, Asn63, Asn51, Tyr50, Tyr510, Arg514, Ala348, His378, Gly352, Asp350, Ser44, Trp349
		Legame a idrogeno convenzionale	Ser43, Asp382
		Legame carbonio-idrogeno	His401, Trp69, Ser47
		Pi-alchile	Met62, Arg393
		Pi-Pi impilato	His401, Phe390, Phe40
		Pi-Pi a forma di T	His401, Phe390, Phe40
		Donatore-donatore sfavorevole	Arg393

Tabella 3. Energia di legame, tipi di interazione e aminoacidi coinvolti nell'interazione del recettore umano ACE2 con curcumina e catechina.

Recettore-ligando	Affinità di legame (kcal/mol)	Tipi di interazione	Nome AA interagente AA No; Per ACE2	Nome AA interagente AA No; Per la proteina S
Complesso RBD/ACE2 con curcumina	- 7.6	Van der waals	Phe390, Asn33, Glu37, His34, Asp38, Lys353, Arg396, Pro389	Arg408, Gly416, Ile418, Tyr505, Gln493, Gly496, Tyr495, Arg403,
		Legame a idrogeno convenzionale		Gln409, Ser494
		Legame carbonio-idrogeno		Glu406
		Pi-alchile		Lys417
		Donatore-donatore sfavorevole		Gln409
		Legame idrogeno donatore di Pi		Tyr453
Complesso RBD/ACE2 con catechina	- 9.1	Van der waals	Arg559, Gln338, Ser536, Thr92, Leu 29, Val 93, Lys26, Asn33, Ala386, Il suo 34	Gly416, Gln409, Asp405, Leu455, Tyr453
		Legame a idrogeno convenzionale	Arg393, Glu37, Gln96	Glu406, Arg408, Tyr505
		Legame carbonio-idrogeno	Ala387	
		Pi-alchile	Pro389	Lys417
		Legame idrogeno donatore di Pi	Gln96	
		Accettore-accettore sfavorevole		Glu406
Donatore-donatore sfavorevole		Arg403		

Tabella 4. Energia di legame, tipi di interazione e amminoacidi coinvolti nell'interazione del complesso RBD/ACE2- con curcumina e catechina.

questi due polifenoli sono anche in grado di causare fluttuazioni in entrambe le regioni alfa-eliche e beta-strand del complesso. Mentre la fluttuazione mediata dalla curcumina è più localizzata alla parte della proteina S del complesso rispetto all'ACE2, la fluttuazione mediata dalla catechina è osservata in entrambi i componenti del complesso (Fig. 9). Le energie di legame MM-GBSA massime e minime per il 'complesso RBD/ACE2' con la curcumina sono risultate rispettivamente di - 69 kcal/mol (a 10 ns) e - 53 kcal/mol (a 90 ns). Analogamente, durante l'interazione del 'complesso RBD/ACE2' con la catechina, le energie di legame MM-GBSA massime e minime sono risultate rispettivamente pari a - 57 kcal/mol (a 20 ns) e - 28 kcal/mol (a 80 ns) (Fig. S15 supplementare). Il calcolo dell'energia libera totale MM-GBSA indica un'energia di legame favorevole per l'interazione della curcumina con il "complesso proteina S e ACE2" (- 60,84 kcal/mol) rispetto a quella della catechina (- 45,04 kcal/mol). Dopo aver effettuato il docking di entrambi i polifenoli sull'interfaccia del "complesso RBD/ACE2" in concomitanza con una simulazione MD di 100 ns, è stato dimostrato che i polifenoli formano interazioni stabili e favorevoli con entrambe le proteine RBD e ACE2. Inoltre, è stata osservata una maggiore affinità di legame di entrambi i polifenoli verso RBD rispetto ad ACE2.

I risultati del presente studio suggeriscono che i residui aminoacidici di entrambi i componenti del "complesso RBD/ACE2

che interagiscono con i polifenoli utilizzati nel presente studio differiscono notevolmente a seconda della natura dei polifenoli e dei componenti del complesso. Inoltre, il tempo di interazione dei residui aminoacidici di entrambi i componenti del complesso varia a seconda dei tipi di polifenoli. Ad esempio, i residui come

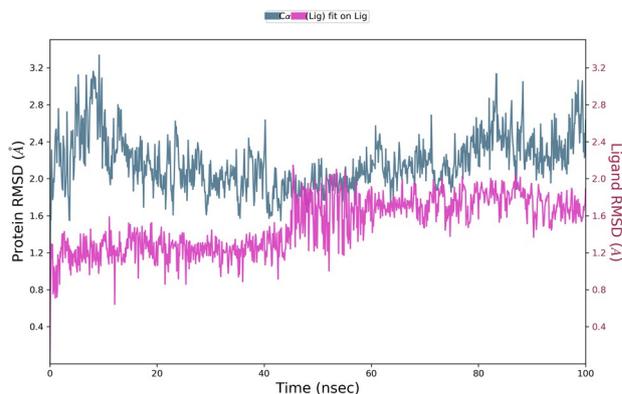


Figura 8. Grafico della deviazione quadratica media (RMSD) per l'interazione tra curcumina e il complesso RBD/ACE2 durante 0-100 ns di simulazione dinamica molecolare.

Glu37 e Arg393 del recettore ACE2 del complesso interagiscono con la catechina attraverso un legame idrogeno convenzionale per il 97% e il 94% del tempo di simulazione, rispettivamente, mentre Ala387 interagisce per l'87% del tempo di simulazione attraverso un legame carbonio-idrogeno. Allo stesso modo, residui aminoacidici come Asp38 dell'ACE2 e Gly496 della proteina S del complesso sono impegnati con la curcumina per il 94% e l'83% del tempo totale di simulazione, cioè 100 ns, rispettivamente, attraverso l'interazione di van der Waals (Fig. S13 supplementare). Vale la pena ricordare che tutte le interazioni sono superiori all'80% della traiettoria totale della simulazione. Le informazioni ricavate dallo studio di simulazione sono supportate anche dalla sovrapposizione ben allineata di curcumina e catechina sulla RBD della "proteina S e del complesso ACE2" durante la simulazione da 0 a 100 ns³⁸ (Fig. 10). I risultati del docking e della simulazione mostrano elevate energie di legame che riflettono il fatto che questi due polifenoli si legano fortemente all'interfaccia del "complesso RBD/ACE2".

Si osserva che il legame tra la proteina S (RBD) e il complesso ACE2 (Figg. S17 e S18) presenta diversi schemi di legame (legami H, interazioni idrofobiche e a ponte salino), dove il numero e l'intensità dei residui aminoacidici interagenti per le catene Apo A e B sono relativamente elevati. Al contrario, la presenza/il legame di catechina o curcumina nell'interfaccia del "complesso RBD/ACE2" riduce al minimo tali interazioni.

I risultati ottenuti da più prove hanno dimostrato che entrambi i polifenoli si legano preferibilmente ai siti della proteina S (sito RBD) che sono cruciali nel legame con la cellula ospite³³. Allo stesso modo, si è visto che queste molecole si attaccano ai siti dell'ACE2 che sono coinvolti nell'ingresso del virus³⁹. I risultati dei presenti studi computazionali suggeriscono quindi la possibilità di prevenire l'infezione virale con l'uso di catechina e curcumina, due polifenoli naturali ampiamente utilizzati. Questo duplice meccanismo inibitorio, che blocca il legame dei recettori della cellula ospite con il virus e inibisce l'ingresso della proteina virale nella cellula, potrebbe essere un bersaglio terapeutico efficace, come risulta da una serie di studi computazionali. Tuttavia, questo deve essere convalidato sperimentalmente prima di un intervento traslazionale. Inoltre, l'eliminazione e la neutralizzazione dell'infezione virale da parte della catechina e della curcumina non possono essere ignorate perché entrambi i polifenoli sono ben noti come immunostimolanti e induttori di autofagia, un altro importante fattore di rischio.

meccanismo di clearance virale^{14,40}.

Pertanto, la disponibilità di catechina e curcumina nel sistema ospite può facilitare tutti i diversi meccanismi contemporaneamente e, quindi, promuovere l'eliminazione e/o la neutralizzazione dell'infezione virale.

Conclusione

La pandemia del virus Corona ha creato un panorama dirompente nella sfera sociale, sanitaria ed economica. La letalità del virus ha portato via molte vite. È urgente contenere l'epidemia diffusa di SARS-CoV2. In questo contesto, i risultati di questo studio computazionale indicano che la catechina e la curcumina possono essere considerate come potenziali farmaci antivirali contro la SARS-CoV2. Tuttavia, ciò richiede un'ulteriore convalida sperimentale per avvalorare i risultati.

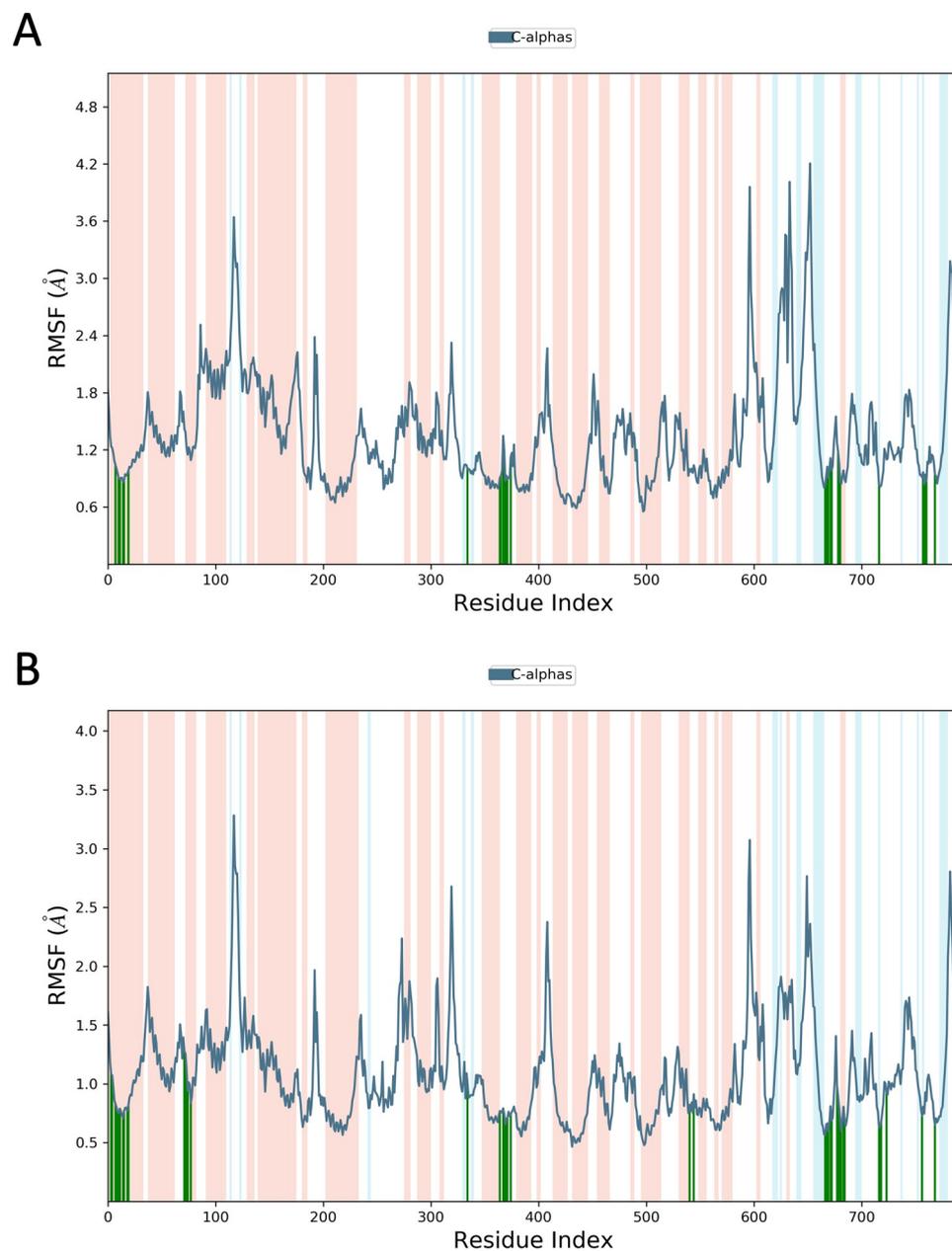


Figura 9. (A) Grafico RMSF che mostra le fluttuazioni indotte dalla curcumina nell'intera sequenza aminoacidica del complesso RBD/ACE2 durante simulazioni MD di 100 ns. (B) Grafico RMSF raffigurante le fluttuazioni indotte dalla catechina nell'intera sequenza aminoacidica del complesso RBD/ACE2 durante simulazioni MD di 100 ns.

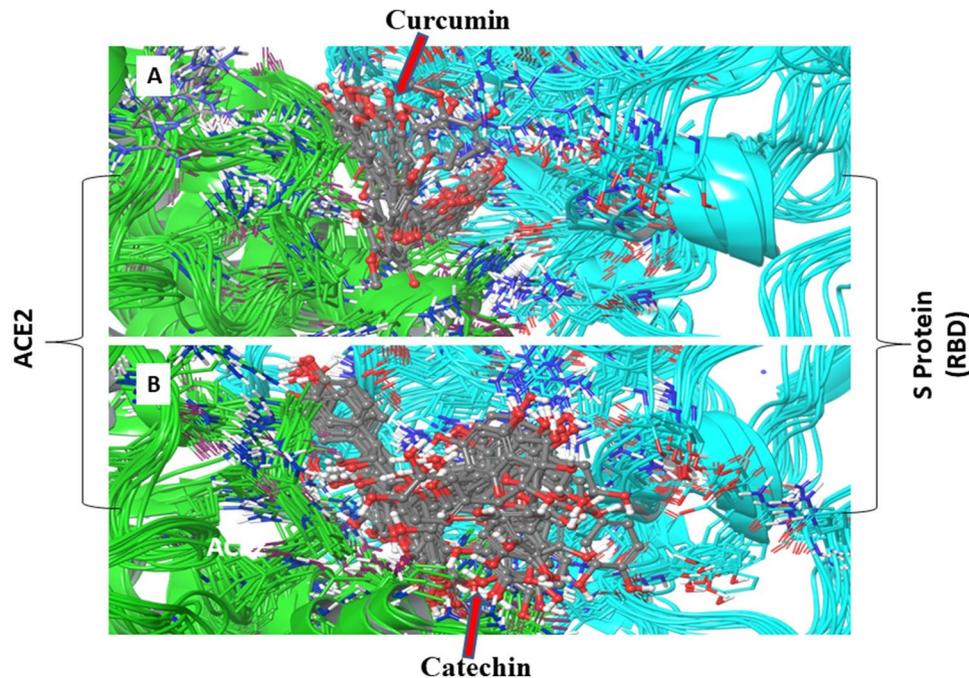


Figura 10. Sovrapposizione di istantanee multiple prese durante l'interazione di (A) curcumina e (B) catechina con il complesso RBD/ACE2, derivate da 100 ns di simulazioni MD a intervalli di 10 ns.

Disponibilità dei dati

I dati relativi alle strutture illustrative e alle versioni interattive delle Figg. 2, 3, 4, 5, 6, 10, S2, S3, S4, S8, S9 e S9 sono stati raccolti in un unico documento. S16 sono stati inviati a figshare (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.13379453>).

Ricevuto: 24 marzo 2020; Accettato: 17 dicembre 2020

Published online: 21 January 2021

Riferimenti

- Chen, N. *et al.* Caratteristiche epidemiologiche e cliniche di 99 casi di polmonite da nuovo coronavirus del 2019 a Wuhan, Cina: un'analisi di rischio. *Lancet* **395**, 507-513. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7) (2020).
- Lu, R. *et al.* Caratterizzazione genomica ed epidemiologia del nuovo coronavirus 2019: implicazioni per le origini del virus e il legame con il recettore. *Lancet* **395**, 565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8) (2020).
- <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/myth-busters>.
- Gu, W., Zhou, T., Ma, J., Sun, X. & Lu, Z. Analisi dell'uso dei codoni sinonimi nel SARS Coronavirus e in altri virus nel *Nidovirales*. *Virus Res.* **101**, 155-161. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.01.006> (2004).
- Ahmed, S. F., Quadeer, A. A. & McKay, M. R. Identificazione preliminare di potenziali bersagli vaccinali per il coronavirus COVID-19 (SARS-CoV-2) sulla base di studi immunologici sul SARS-CoV. *Viruses* **12**, 254. <https://doi.org/10.3390/v12030254> (2020).
- Bosch, B. J., van der Zee, R., de Haan, C. A. M. & Rottier, P. J. M. La proteina spike del coronavirus è una proteina di fusione virale di classe I: caratterizzazione strutturale e funzionale del complesso core di fusione. *J Virol.* **77**, 8801-8811. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.16.8801-8811.2003> (2003).
- Walls, A. C. *et al.* Scudo glicanico e mascheramento dell'epitopo di una proteina spike del coronavirus osservata al microscopio crioelettronico. *Nat. Struct. Biol.* **23**, 899-905. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3293> (2016).
- Millet, J. K. & Whittaker, G. R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* **202**, 120-134. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.11.021> (2015).
- White, J. M. & Whittaker, G. R. Fusione di virus avvolti negli endosomi. *Traffic (Copenhagen, Danimarca)* **17**, 593-614. <https://doi.org/10.1111/tra.12389> (2016).
- Mustafa, S., Balkhy, H. & Gabere, M. Peptide-protein interaction studies of antimicrobial peptides targeting Middle East Respiratory Syndrome coronavirus spike protein: an in silico approach. *Adv. Bioinform.* **2019**, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2019/6815105> (2019).
- Ge, X. Y. *et al.* Isolamento e caratterizzazione di un coronavirus simile alla SARS dei pipistrelli che utilizza il recettore ACE2. *Nature* **503**, 535-538. <https://doi.org/10.1038/nature12711> (2013).
- Padhi, A., Jayaram, B. & Gomes, J. Previsione della perdita funzionale di mutanti di angiogenina umana associati alla SLA mediante simulazioni di dinamica molecolare. *Sci. Rep.* **3**, 1225. <https://doi.org/10.1038/srep01225> (2013).
- Wu, C. *et al.* Analisi dei bersagli terapeutici per la SARS-CoV-2 e scoperta di potenziali farmaci con metodi computazionali. *Acta Pharm. Sin. B* <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.02.008> (2020).
- Song, J. M. Potenziale antinfettivo delle catechine e dei loro derivati contro l'epatite virale. *ClinExp. Vaccine Res.* **7**, 37-42. <https://doi.org/10.7774/cevr.2018.7.1.37> (2018).
- Steinmann, J., Buer, J., Pietschmann, T. & Steinmann, E. Proprietà antinfettive dell'epigallocatechina-3-gallato (EGCG), un componente del tè verde. *Br. J. Pharmacol.* **168**, 1059-1073. <https://doi.org/10.1111/bph.12009> (2013).
- Weber, C., Sliva, K., von Rhein, C., Kummerer, B. M. & Schnierle, B. S. La catechina del tè verde, epigallocatechingallato, inibisce l'infezione da virus chikungunya. *Antivir. Res.* **113**, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.11.001> (2015).

17. Chen, C. *et al.* (-)-Epigallocatechina-3-gallato inibisce il ciclo di replicazione del virus dell'epatite C. *Antivir. Res.* **157**, 1301-1312. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1304-0> (2012).
18. Nakayama, M. *et al.* Inibizione dell'infettività del virus dell'influenza da parte dei polifenoli del tè. *Antivir. Res.* **21**, 289-299. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(93\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0166-3542(93)90008-7) (1993).
19. Imanishi, N. *et al.* Ulteriore effetto inibitorio dell'estratto di tè sulla crescita dei virus dell'influenza A e B in cellule MDCK. *Microbiol. Immunol.* **46**, 491-494. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2002.tb02724.x> (2002).
20. Song, J. M., Lee, K. H. & Seong, B. L. Effetto antivirale delle catechine del tè verde sul virus dell'influenza. *Antivir. Res.* **68**, 66-74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.06.010> (2005).
21. Kim, M. *et al.* Inibizione dell'internalizzazione del virus dell'influenza da parte di (-)-epigallocatechina-3-gallato. *Antivir. Res.* **100**, 460-472. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.08.002> (2013).
22. Dairaku, I., Han, Y., Yanaka, N. & Kato, N. Effetto inibitorio della curcumina sull'IMP deidrogenasi, bersaglio di agenti chemioterapici antitumorali e antivirali. *BiosciBiotechnolBiochem.* **74**, 185-187. <https://doi.org/10.1271/bbb.90568> (2010).
23. Persson, I. A. L., Josefsson, M., Persson, K. & Andersson, R. G. G. I flavanoli del tè inibiscono l'attività dell'enzima di conversione dell'angiotensina e aumentano la produzione di ossido nitrico nelle cellule endoteliali umane. *J. Pharm. Pharmacol.* **58**, 1139-1144. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.8.0016> (2006).
24. Fazal, Y., Fatima, S. N., Shahid, S. M. & Mahboob, T. Effetti della curcumina sull'espressione genica dell'enzima di conversione dell'angiotensina, sullo stress ossidativo e sullo stato antiossidante nell'epatotossicità indotta dalla tioacetamide. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* **16**, 1046-1051. <https://doi.org/10.1177/1470320314545777> (2015).
25. Padhi, A. K., Kalita, P., Zhang, K. Y. & Tripathi, T. High throughput designing and mutational mapping of RBD-ACE2 interface guide non-conventional therapeutic strategies for COVID-19. *BioRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.05.19.104042> (2020).
26. Padhi, A., Seal, A. & Tripathi, T. Come fa l'arbidol a inibire il nuovo coronavirus SARS-CoV-2? Approfondimenti atomistici da simulazioni di dinamica molecolare. *ChemRxiv.* <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12464576.v1> (2020).
27. Kalita, P., Padhi, A., Zhang, K. Y. J. & Tripathi, T. Progettazione di un vaccino a subunità a base di peptidi contro il nuovo coronavirus SARS-CoV-2. *Microb. Pathog.* <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104236> (2020).
28. Kozakov, D. *et al.* Il server web ClusPro per il docking proteico-proteico. *Nat. Protoc.* **12**, 255-278. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.169> (2017).
29. Pettersen, E. F. *et al.* UCSF Chimera, un sistema di visualizzazione per la ricerca e l'analisi esplorativa. *J. Comput. Chem.* **25**, 1605-1612 (2004).
30. Trott, O. & Olson, A. J. Auto Dock Vina: migliorare la velocità e l'accuratezza del docking con una nuova funzione di punteggio, un'efficiente ottimizzazione e il multithreading. *J. Comput. Chem.* **31**, 455-461 (2010).
31. DassaultSystemes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego: DassaultSystèmes (2016).
32. Schrödinger Release 2020-2: LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY (2020).
33. Friesner, R. A. *et al.* Extra precision glide: docking e scoring che incorporano un modello di involucro idrofobico per complessi proteina-ligando. *J. Med. Chem.* **49**, 6177-6196 (2006).
34. Schrödinger Release 2020-2: Desmond Molecular Dynamics System, D. E. Shaw Research, New York, NY. Maestro-Desmond Interoperability Tools, Schrödinger, New York, NY (2020).
35. Schrödinger Release 2020-2: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY (2020).
36. Comunicato Schrodinger 2018-2: Prime, Schrodinger. Schrodinger, LLC, New York, NY (2018).
37. Wrapp, D. *et al.* Struttura crio-EM dello spike 2019-CoV nella conformazione di prefusione. *Science* **367**, 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507> (2020).
38. Nutho, B. *et al.* Perché lopinavir e ritonavir sono efficaci contro il nuovo Coronavirus 2019?: approfondimenti atomistici sui meccanismi inibitori di. *Biochimica* <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.0c00160> (2020).
39. Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S. & Li, F. Riconoscimento dei recettori da parte del nuovo coronavirus di Wuhan: un'analisi basata su studi strutturali decennali sulla SARS. *J. Virol.* <https://doi.org/10.1128/jvi.00127-20> (2020).
40. Shinjima, N., Yokoyama, T., Kondo, Y. & Kondo, S. Ruolo delle vie di segnalazione Akt/mTOR/p70S6K e ERK1/2 nell'autofagia indotta dalla curcumina. *Autophagy* **3**, 635-637. <https://doi.org/10.4161/auto.4916> (2007).

Ringraziamenti

Gli autori sono grati alla Banca Mondiale-OHEPEE (Odisha Higher Education Program for Excellence and Equity), Dipartimento dell'Istruzione Superiore, Governo dell'Odisha per il sostegno al Centro di Eccellenza in Biologia Integrata Omica e Computazionale dell'Università Utkal. Si ringrazia il sostegno del DBT Government of India, New Delhi, al Dipartimento di Biotecnologie dell'Università Utkal. Gli autori sono grati all'onorevole Vice Cancelliere dell'Università di Utkal per averci ispirato a sviluppare questo manoscritto. Siamo grati a Vinod Devaraji, Computational Drug Design Lab, School of Bio Sciences and Technology, Vellore Institute of Technology per i suoi contributi.

Contributi degli autori

A.B.J.: Progettazione dell'esperimento, lavoro di calcolo e stesura del manoscritto. N.K.: lavoro di calcolo e stesura del manoscritto. V.N.: analisi dei dati e stesura del manoscritto. G.B.N.C.: Progettazione dell'esperimento, stesura del manoscritto ed editing. J.D. Progettazione dell'esperimento, stesura del manoscritto ed editing.

Interessi contrastanti

Gli autori non dichiarano interessi in competizione.

Informazioni aggiuntive

Informazioni supplementari La versione online contiene materiale supplementare disponibile su <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81462-7>.

La corrispondenza e le richieste di materiale devono essere indirizzate a J.D.

Le informazioni per la ristampa e le autorizzazioni sono disponibili all'indirizzo www.nature.com/reprints.

Nota dell'editore Springer Nature rimane neutrale rispetto alle rivendicazioni giurisdizionali nelle mappe pubblicate e alle affiliazioni istituzionali.



Open Access Questo articolo è rilasciato sotto licenza Creative Commons Attribuzione 4.0 Internazionale, che ne consente l'uso, la condivisione, l'adattamento, la distribuzione e la riproduzione con qualsiasi mezzo o mezzo di comunicazione. purché si dia credito all'autore o agli autori originali e alla fonte, si fornisca un link alla licenza Creative Commons e si indichi se sono state apportate modifiche. Le immagini o altro materiale di terze parti presenti in questo articolo sono incluse nella licenza Creative Commons dell'articolo, a meno che non sia indicato diversamente in una riga di credito del materiale. Se il materiale non è incluso nella licenza Creative Commons dell'articolo e l'uso che se ne intende fare non è consentito dalle norme di legge o eccede l'uso consentito, è necessario ottenere l'autorizzazione direttamente dal titolare del copyright. Per visualizzare una copia di questa licenza, visitare il sito <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© L'autore/i 2021