



-In silico Φαρμακοδυναμικές και Φαρμακοκινητικές Μελέτες Πιθανών Βιοδραστικών Ενώσεων των Φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*

Νικόλαος Σταυρίδης^{1,†}, Νικήτας Γεωργίου^{1,†}, Ερρίκος Πέτσας¹, Αναστάσιος Καλατζής¹, Τζοάνα Σέχου¹, Ανδρέας Τζάκος², Άννα Τσαντίλη-Κακουλίδου^{3*}, Θωμάς Μαυρομούστακος*

¹Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 15771, Ελλάδα

²Εργαστήριο Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, 45110, Ελλάδα

³Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 15771, Ελλάδα

†Αυτοί οι συγγραφείς είχαν ισοδύναμη συνεισφορά



DOI: [10.60988/p.v36i4.18](https://doi.org/10.60988/p.v36i4.18)

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: *Achillea Holosericea*;
Achillea Millefolium;
in silico; Swiss ADME;
pkCSM; μοριακή πρόσδεση;
Autodock

ARTICLE INFO:

Received: September 18, 2023

Revised: April 25, 2024

Accepted: June 30, 2024

Available on line: January 3, 2025

* ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ ΓΙΑ ΑΛΛΗΛΟΓΡΑΦΙΑ:

Θ. Μαυρομούστακος
e-mail: tmavrom@chem.uoa.gr
Άννα Τσαντίλη-Κακουλίδου,
e-mail: tsantili@pharm.uoa.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αξιοποίηση φυτών και φυτικών προϊόντων για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών είναι μια πρακτική που εφαρμόζεται ακόμα και σήμερα από τον άνθρωπο και παρουσιάζει της ρίζες της ήδη από αρχαιοτάτους χρόνους. Η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών και συγκεκριμένα οι μέθοδοι μοριακής μοντελοποίησης συμβάλλουν αισθητά στην ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών ενώσεων αφενός μέσω του ορθολογικού σχεδιασμού νέων ενώσεων και αφετέρου μέσω της μείωσης του αριθμού των πειραματόζων που χρησιμοποιούνται μειώνοντας αντίστοιχα το κόστος των δοκιμών. Στη παρούσα εργασία μελετώνται οι χημικές ενώσεις που απαντώνται στα φυτά *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*, τα οποία φύονται στη περιοχή της Ηπείρου, ως προς τις φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές τους ιδιότητες, καθώς και ως προς την πιθανή χρήση τους ως ενώσεις-οδηγοί. Στη συνέχεια, οι ενώσεις που εμφανίζουν επιθυμητά χαρακτηριστικά ως προς τις ιδιότητες αυτές πραγματοποιείται *in silico* μελέτη της μοριακής πρόσδεσης των ενώσεων αυτών προς ορισμένες πρωτεΐνες στόχους, αξιοποιώντας το λογισμικό AutoDock.

1. Εισαγωγή

1.1 Φυτά του γένους *Achillea*

Ο άνθρωπος από αρχαιοτάτων χρόνων, προσπάθησε να θεραπεύσει ασθένειες χρησιμοποιώντας φυσικά προϊόντα από φυτά. Έως και σήμερα, οι φυσικές πηγές συνεχίζουν να αποτελούν πηγή ανακάλυψης νέων φαρμάκων, με χαρακτηριστικό παράδειγμα το γένος *Achillea* ή Αχιλλέας. Το γένος *Achillea* αποτελείται από φυτά που ανήκουν στην οικογένεια *Asteraceae* και χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλία ειδών, όπως το *Achillea Taygetea* και το *Achillea Fraasii*, *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*. Πρόκειται για ένα Ευρωπαϊκό γένος φαρμακευτικών φυτών με τη βασική τους καλλιέργεια να πραγματοποιείται στον ευρύτερο χώρο της Μεσογείου και αναπτύσσεται υπό περιβαλλοντικές συνθήκες ημίξηρου κλίματος. Επίσης, έχουν παρατηρηθεί περισσότερο από 130 είδη βοτάνων στο βόρειο ημισφαίριο. Έχει μελετηθεί εκτενώς για τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες που οφείλονται στα φυτικά έλαια και τις βιοδραστικές ουσίες που υπάρχουν σε σημαντικές συγκεντρώσεις στα κύτταρα του, όπως τα φλαβονοειδή και τα λιπαρά οξέα.¹ Χρησιμοποιούνται ως φαρμακευτικά φυτά κατά του κοινού κρυολογήματος, των πεπτικών προβλημάτων, την επούλωση πληγών και των δερματικών φλεγμονών, καθώς επίσης και σε καλλυντικά προϊόντα.²

1.1.1. Τα φυτά *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*

Το *Achillea Holosericea* («*A. Holosericea*» ή «Αγριολούλουδα του Ολύμπου») πρόκειται για ένα είδος φυτού που καλλιεργείται στη Βαλκανική Χερσόνησο, ενώ συγκεκριμένα ανακαλύφθηκε στις πλαγιές του όρους Ταϋγέτου τον Ιούλιο του 2000.¹ Είναι ένα κίτρινο άνθος ύψους 30-40 cm με φουντωτά εξωτερικά χαρακτηριστικά. Τα φύλλα του έχουν μήκος 5-20 cm, λογχοειδή στο περίγραμμα, με τις ανθοκεφαλές να σχηματίζουν πυκνούς κορύμβους.

Το *Achillea Millefolium* («*A. Millefolium*» ή «Yarrow» ή «Αγριαψιθιά») είναι το πιο διαδεδομέ-

νο είδος και συγκαταλέγεται στα είδη φυτών που χρησιμοποιούνται πιο συχνά στη λαϊκή και στη συμβατική ιατρική για περισσότερα από 3000 χρόνια.² Η ανακάλυψη του έγινε σε έναν Ιρακινό τάφο ενός Νεάντερταλ της Μέσης Παλαιολιθικής εποχής και η ονομασία οφείλεται στον Έλληνα ήρωα Αχιλλέα, που λέγεται ότι χρησιμοποίησε φύλλα του φυτού αυτού, ώστε να σταματήσει την αιμορραγία από τις πληγές των στρατιωτών του. Πρόκειται για ένα είδος φυτών που καλλιεργείται σε όλη την Ευρώπη, ενώ έχουν παρατηρηθεί καλλιέργειες και στην Ασία και Βόρεια Αμερική. Η περίοδος άνθισης του εμπίπτει εντός των θερμών κλιμάτων, πιο συγκεκριμένα από Μάιο μέχρι Σεπτέμβριο. Πρόκειται για ένα λευκό άνθος που φτάνει το ύψος των 50 cm, ενώ τα φύλλα έχουν μήκος 5 έως 20 εκατοστά και διατάσσονται σπειροειδώς κοντά στο μέσο και κάτω μέρος του στελέχους.³

2. Χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*

Σύμφωνα με την διαθέσιμη βιβλιογραφία η χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium* παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Όσον αφορά το φαρμακολογικό ενδιαφέρον του είδους *Achillea Holosericea*, ύστερα από χημικές αναλύσεις των ελαίων που εκχυλίστηκαν από το φυτό, παρατηρήθηκε ότι η Καμφορά και η Βορνεόλη (τερπενοειδή με ευρεία χρήση ως αναλγητικά και αντιφλεγμονώδη φάρμακα) ήταν τα κύρια συστατικά στα δείγματα που μελετήθηκαν, ενώ παράλληλα οι έρευνες έδειξαν ότι οι ουσίες που εμπεριέχονται στα κύτταρα του είδους *Achillea Holosericea* εμφανίζουν ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών ιδιοτήτων έναντι ορισμένων βακτηρίων, όπως των *Staphylococcus Aureus* και *Escherichia Coli*, καθώς και έναντι ορισμένων μυκήτων, όπως των *Aspergillus Niger* και *Candida Albicans*.^{1,4}

Έχει διαπιστωθεί πως η γεωγραφική προέλευση του φυτού *Achillea Millefolium* αποδίδει διαφορετικό χημικό προφίλ, αφού το αιθέριο έλαιο που παράγεται από διαφορετικές χώρες παρου-

Πίνακας 1. Οι ενώσεις που απαντώνται στα αιθέρια ελαία των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*.

Φυτό	Τερπενοειδή	Λιγνάνες	Φλαβονοειδή	Αζουλένια και Προαζουλένια	Παράγωγα Αμινοξέων	Λοιπές Ενώσεις
<i>A. Holosericea</i>	22	10	6	-	-	8
<i>A. Millefolium</i>	66	-	10	4	5	7

σιάζει διαφορετική χημική σύσταση. Όσον αφορά το φαρμακολογικό ενδιαφέρον του είδους *Achillea Millefolium*, ποικιλία φαρμακολογικών πειραμάτων έχουν επιβεβαιώσει τις σπασμολυτικές, αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές, αντιδιαβητικές, αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές δράσεις του είδους.⁵ Από τις ανθισμένες κορυφές απομονώνεται αιθέριο έλαιο με κύρια συστατικά την ευκαλυπτόλη, την καμφορά, την α-τερπινεόλη, το β-πινένιο και την βορνεόλη. Οι ενώσεις αυτές έχουν βρει εφαρμογές στην ιατρική έναντι μικροβίων όπως το *Streptococcus Pneumoniae* και το *Clostridium Perfringens*.⁴ Επιπρόσθετα, εκχύλισμα των φύλλων του Yarrow⁶ χρησιμοποιείται για τη θεραπεία ασθενειών του γαστρεντερικού σωλήνα όπως η δυσπεψία, ο μετεωρισμός και το κοιλιακό άλγος, ενώ πρόσφατη σημαντική ανακάλυψη αποδείχθηκε η ικανότητά του να ανακουφίζει από τον πόνο της πρωτοβάθμιας δυσμηνόρροιας.^{1,5,7,8}

1.2. Υπολογιστικός Σχεδιασμός Φαρμάκων

Ο υπολογιστικός σχεδιασμός φαρμάκων είναι ένας ταχέως εξελισσόμενος τομέας που συνδυάζει τις φαρμακευτικές επιστήμες με την επιστήμη των υπολογιστών και της στατιστικής και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανακάλυψη νέων υποψηφίων φαρμακομορίων. Συμβάλλει στη σημαντική μείωση του χρόνου και του κόστους με επι πλέον πλεονέκτημα την αποφυγή πρώιμων δοκιμών σε πειραματόζωα. Ο ορθολογικός σχεδιασμός βασίζεται στη χρήση υπολογιστικών τεχνικών για την αναζήτηση νέων χημικών ενώσεων που στοχεύουν σε συγκεκριμένους βιολογικούς στόχους, την πρόβλεψη και βελτιστοποίηση της δράσης τους καθώς επίσης την εκτίμηση των φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων τους και την τοξικότητα στα πλαίσια μιας ολιστικής προσέγγισης που διερευνά τη συνολική συμπεριφορά

των μορίων στον οργανισμό παράλληλα με την αλληλεπίδραση τους με τον υποδοχέα.⁹⁻¹² Δεδομένου ότι ο χημικός χώρος των πιθανών φαρμακομορίων είναι αχανής, η αξιολόγηση της φαρμακο-ομοιότητας (druglikeness) των ενώσεων χρησιμεύει για ένα πρώτο αποκλεισμό από περαιτέρω έρευνα μορίων που δεν φέρουν χαρακτηριστικά φαρμάκου. Η φαρμακο-ομοιότητα βασίζεται σε απλούς κανόνες όσον αφορά σε συγκεκριμένες φυσικοχημικές ιδιότητες, κρίσιμες για την απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό και απέκκριση των φαρμάκων, όπως συνοψίζονται στο ακρωνύμιο ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Elimination).¹³⁻¹⁶

Σκοπός της εργασίας

Στο παρόν άρθρο μελετώνται η φαρμακο-ομοιότητα και οι φαρμακοδυναμικές, φαρμακοκινητικές και τοξικές ιδιότητες πιθανών βιοδραστικών ενώσεων των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*. Η μελέτη έγινε με χρήση κατάλληλων λογισμικών που επιτρέπουν την πρόβλεψη των ιδιοτήτων ADME και τοξικών ιδιοτήτων καθώς και την μοριακή πρόσδεση σε πέντε βιολογικούς -στόχους:

Στα ένζυμα πρωτεάση του ιού της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας Τύπου 1 (HIV-1), κυκλοοξυγονάση-2 (COX-2), η οποία εμπλέκεται στη φλεγμονή,⁷ Μονοαμινοξειδάση-A (MAO-A) και Μονοαμινοξειδάση-B (MAO-B), αναστολή των οποίων οδηγεί σε αντικαταθλιπτική δράση και στον υποδοχέα αγγειοτασίνης II τύπου 2 (AT-2), αποκλεισμός του οποίου έχει ως αποτέλεσμα καρδιοπροστατευτική ή νευροπροστατευτική δράση.

3.Υλικά και Υπολογιστικές Μέθοδοι που εφαρμόστηκαν-Λογισμικά

Οι ενώσεις που εξετάστηκαν είναι συστατικά των

Πίνακας 2: Επεξηγήσεις για την καταχώρηση των αποτελεσμάτων φαρμακοομοιότητας και ιδιοτήτων των ADME.

Καταχώρηση	Ιδιότητα	Πληροφορίες -Μονάδες	Ιδιότητα ADME
Mw	Μοριακό Βάρος	Μέτρο μεγέθους	Φαρμακο-ομοιότητα
logP	Λιποφιλία	Υπολογισμός με διάφορα προγράμματα	Φαρμακο-ομοιότητα
RB	Περιστρεφόμενοι δεσμοί	Μέτρο ευκαμψίας	Φαρμακο-ομοιότητα
HD	Δέκτες σε υδρογονικούς δεσμούς	Άτομα H συνδεδεμένα με N ή O	Φαρμακο-ομοιότητα
HA	Δότες σε υδρογονικούς δεσμούς	Άτομα N + O	Φαρμακο-ομοιότητα
tPSA	Τοπολογική Πολική Έπιφάνεια	Μέτρο πολικότητας	Φαρμακο-ομοιότητα
SA	Έμβαδό επιφάνειας	Μέτρο μεγέθους	Φαρμακο-ομοιότητα
logS	Μοριακή διαλυτότητα στο νερό	Μέτρο διαλυτότητας	Φαρμακο-ομοιότητα
Ro5	Κανόνας του πέντε-Lipinski Η μοριακή μάζα δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 500 Daltons. Η λιποφιλία (logP) δεν πρέπει να υπερβαίνει το 5. Δεν πρέπει να υπάρχουν περισσότεροι από 5 δότες δεσμών υδρογόνου (ομάδες NH ή OH). Δεν πρέπει να υπάρχουν περισσότεροι από 10 δέκτες δεσμών υδρογόνου (άτομα οξυγόνου ή αζώτου).	Ναι - 0-2 παραβιάσεις Όχι 3-4 παραβιάσεις	Φαρμακο-ομοιότητα
Veber	Κανόνας Veber Οι περιστρεφόμενοι δεσμοί δεν πρέπει να υπερβαίνουν τους 10. Η τοπολογική πολική επιφάνεια (TPSA) δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 140 Å ²	Ναι/Όχι	Φαρμακο-ομοιότητα
CMC rule /Ghose	CMC-like rule /κανόνας του Ghose Η μοριακή μάζα πρέπει να είναι μεταξύ 160 και 480 Daltons. Η λιποφιλία (logP) πρέπει να είναι μεταξύ -0.4 και 5.6. Ο συνολικός αριθμός ατόμων πρέπει να είναι μεταξύ 20 και 70. Η γραμμομοριακή διαλυτότητα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από -0.4 και μικρότερη από 5.6.	Παραβιάσεις Ναι/Όχι	Φαρμακοομοιότητα
HIA	Γαστρεντερική Απορρόφηση	<i>in vivo</i> %	Απορρόφηση
VDss (human)	Όγκος Κατανομής	log L/kg	Κατανομή
BBB	Διαπερατότητα Αιματοεγκεφαλικού Φραγμού	logBB	Κατανομή
CNS penetration	Διείσδυση στο ΚΝΣ	logPS	Κατανομή
P450	Υπόστρωμα/αναστολέας σε ισόένζυμα του P450	Ναι/Όχι	Μεταβολισμός
P-gp	Υπόστρωμα/αναστολέας της p-γλυκοπρωτεΐνης	Ναι/Όχι	Απορρόφηση

Πίνακας 2. συνέχεια

Caco-2	Διαπερατότητα σε κυτταρικές σειρές Caco2	logPapp/cm10-6/sec	Απορρόφηση
PPB	Πρωτεϊνική σύνδεση	%PPB ή fu	Κατανομή
Fraction unbound	μη συνδεδεμένο κλάσμα	fu	Κατανομή

Πίνακας 3. Επεξηγήσεις για την καταχώρηση αποτελεσμάτων τοξικότητας.

Καταχώρηση	Ιδιότητα	Μονάδες
AMES	Δοκιμή για μεταλλαξιογόνο δράση	ναι/όχι
Oral rat acute toxicity ⁴⁶	Όξεία Τοξικότητα σε αρουραίους	LD50 mol/kg
Oral rat chronic toxicity ⁴⁷	Χρόνια Τοξικότητα σε αρουραίους	LOAEL-Lowest Observed Adverse Effect Level log mg/kg_bw/day
Hepatotoxicity	Έπαγόμενη Ηπατοτοξικότητα	ναι/όχι
HerG Inhibition	Αναστολή διαύλων καλίου Herg	ναι/όχι
Skin sensitivity	Ευαισθησία στο δέρμα	ναι/όχι
T.Pyriiformis	(Οικο)τοξικότητα σε Tetrahymenis Pyriiformis	log (μg/L)
Τοξικότητα Minnow	(Οικο)τοξικότητα σε Fathead Minnow	log (mM)

φυτών *Achillea*. Χρησιμοποιήθηκαν τρία λογισμικά ελεύθερης πρόσβασης: (i) SwissADME,¹⁸ διαθέσιμο στη διαδικτυακή διεύθυνση <http://www.swissadme.ch> (ii) pkCSM,¹⁹ διαθέσιμο στη διαδικτυακή διεύθυνση και (iii) preADMET,²⁰ διαθέσιμο στη διαδικτυακή διεύθυνση <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>. Το λογισμικό SwissADME συγκεντρώνει τις πιο σημαντικές υπολογιστικές μεθόδους για την εκτίμηση των κρίσιμων φυσικοχημικών ιδιοτήτων (logP, διαλυτότητα, μοριακό βάρος, αριθμός βαρέων ατόμων, ποσοστό Csp3, αριθμό περιστρεφόμενων δεσμών, αριθμό θεσέων δοτών και δεκτών σε δεσμούς υδρογόνου, μοριακή διαθλασιμότητα, τοπολογική πολική επιφάνεια), εκτιμά φαρμακοκινητικές ιδιότητες, όπως γαστρεντερική απορρόφηση, διαπερατότητα αιματοεγκεφαλικού φραγμού, πιθανή συγγένεια με την β -γλυκοπρωτεΐνη (P-grp), υπεύθυνη για την εκροή από το κύτταρο και την πιθανή αναστολή σημαντικών ισομορφών του κυτοχρώματος P450, υπεύθυνων για αλληλεπιδράσεις φαρμάκων, καθώς και τη διαδερμική απορ-

ρόφηση. Επι πλέον το λογισμικό αποδίδει τη συνολική φαρμακο-ομοιότητα μέσω γραφημάτων και με βάση τις παραβιάσεις κανόνων που προτείνονται από διάφορους ερευνητές όπως Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge Το λογισμικό pkCSM χρησιμοποιεί το μοριακό αποτύπωμα βασισμένο στα δομικά γραφήματα (Graph-Based Signatures) για την πρόβλεψη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και των ιδιοτήτων ADMET, (όπου T αναφέρεται στην Τοξικότητα). Το λογισμικό preADMET^{21,22} παρέχει βαθμολόγηση σύμφωνα με τους κανόνες φαρμακο-ομοιότητας, εκτίμηση ιδιοτήτων ADME, καθώς και ορισμένων δεικτών τοξικότητας και οικοτοξικότητας. Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται οι φυσικοχημικές οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες που εκτιμώνται με τα ανωτέρω λογισμικά.

Οι τοξικολογικές παράμετροι που αξιολογήθηκαν είναι :

- AMES Toxicity (Τοξικότητα AMES)²³: Αποτελεί δείκτη μεταλλαξιογόνου δράσης Πρόκειται για έναν γρήγορο και αξιόπιστο βακτηριακό προσδιορισμό,

που αξιολογεί αν μια ένωση έχει τη δυνατότητα να προκαλεί αντίστροφη μετάλλαξη σε συγκεκριμένους τόπους γονιδίων, σε ένα βακτηριακό χρωμόσωμα. Ενώσεις με θετική δοκιμή AMES δύνανται να εμφανίσουν καρκινογόνο δράση, ωστόσο υπάρχει πιθανότητα για ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

- **Maximum Tolerated Dose (Human), MTD** (Μέγιστη Ανεκτή Δόση στον άνθρωπο): Προσδιορίζεται σε κλινικές δοκιμές δοκιμάζοντας αυξανόμενες δόσεις. Εκφράζεται υπό λογαριθμική μορφή. Θεωρείται χαμηλή αν είναι μικρότερη ή ίση της τιμής 0,477 log mg/kg/day, ενώ υψηλή αν είναι μεγαλύτερη της τιμής αυτής.

- **hERG I, II Inhibitor** (Αναστολέας των διαύλων καλίου II hERG I)²⁴: Αποτελεί δείκτη καρδιοτοξικότητας

- **Oral Rat Acute Toxicity (LD50)** (Από το Στόμα Οξεία Τοξικότητα): Ορίζεται ως η δόση (Lethal Dose) που προκαλεί θάνατο στο 50% των πειραματόζωων. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή LD50 τόσο μικρότερη είναι η τοξικότητα μιας ένωσης.

- **Minnow Toxicity** (Τοξικότητα Ψαράκιων-Γωβιών)²⁵: Ορίζεται ως η συγκέντρωση (Lethal Concentration, LC50) μίας χημικής ουσίας στον αέρα που προκαλεί θάνατο στο 50% των πειραματόζωων με εφάπαξ έκθεση σε αυτήν κατά τη διάρκεια της παρατήρησης, η οποία διαρκεί συνήθως από μία έως τέσσερις ώρες. Ενώσεις με τιμές LC50 μικρότερες από 0,5 mM θεωρούνται αρκετά τοξικές.

- **Hepatotoxicity** (Ηπατοτοξικότητα)²⁶: Η ηπατοτοξικότητα ορίζεται ως η ηπατική βλάβη που επάγεται από την χρήση ενός φαρμάκου,

- **Skin Sensitization** (Ευαισθητοποίηση δέρματος): Η ευαισθητοποίηση του δέρματος πρόκειται για έναν σημαντικό συντελεστή ασφάλειας που αφορά προϊόντα που εφαρμόζονται στο δέρμα. Στόχος των μοντέλων πρόβλεψης, είναι ο εντοπισμός ενώσεων που έχουν την δυνατότητα να προκαλέσουν αλλεργική απόκριση σε ευαίσθητα άτομα.

- **T. Pyriformis Toxicity** (Τοξικότητα της *Tetrahymena Pyriformis*)²⁷: Πρόκειται για ένα βακτήριο πρωτόζωων που χρησιμοποιείται ως τελικό σημείο λόγω της τοξικότητάς του. Κριτήριο αξιολόγησης αποτελεί το rIGC50 (αρνητικός λογάριθμος

της συγκέντρωσης που απαιτείται για την αναστολή 50% σε log ug/L). Μία δεδομένη ένωση θεωρείται τοξική εάν παρουσιάζει τιμή μεγαλύτερη από -0,5 log ug/L.¹⁸

Για ορισμένες ιδιότητες, τα αποτελέσματα είναι αριθμητικά, ενώ σε άλλες περιπτώσεις υπάρχει θετική ή αρνητική κατηγοριοποίηση. Κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων από τα διάφορα λογισμικά, έγινε εναρμόνιση των μονάδων (όπου υπήρχαν) για να διευκολυνθεί η σύγκριση. Οι ενώσεις εισήχθησαν στα λογισμικά SwissADME και pkCSM με τη χρήση συστήματος μοριακής γραμμικής γραφής SMILES (simplified molecular-input line-entry system) και στο preADMET σχεδιαστικά

Οι τοξικολογικές παράμετροι που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Η επιλογή των βιολογικών στόχων έναντι των οποίων οι ενώσεις- συστατικά των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium* φαίνεται ότι εμφανίζουν σημαντική δράση έγινε με το λογισμικό SwissTargetPrediction, διαθέσιμο στη διεύθυνση.²⁸

Για τους υπολογισμούς μοριακής πρόσδεσης²⁹ στους επιλεγμένους στόχους αξιοποιήθηκε το λογισμικό AutoDock³⁰, ειδικότερα ο Λαμαρκιανός-Γενετικός αλγόριθμος.³¹ Οι κρυσταλλικές δομές των πρωτεϊνών ελήφθησαν από τη διαδικτυακή βάση δεδομένων "Protein Data Bank - PDB"³² και εισήχθησαν απευθείας στο AutoDock για ανάλυση. Οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως προσδέτες σχεδιάστηκαν με τη χρήση του προγράμματος ChemOffice, το οποίο επίσης χρησιμοποιήθηκε για την ελαχιστοποίηση της ενέργειάς τους μέσω του πεδίου δυνάμεων MM2 (MM2 force field). Τέλος, η οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα AutoDock.

Αποτελέσματα-Συζήτηση

Η φαρμακο-ομοιότητα (druglikeness) είναι μια ποιοτική/ποσοτική ιδιότητα που χρησιμεύει στον σχεδιασμό φαρμάκων, καθώς δείχνει πόσο μοιάζει μια ουσία με ένα φάρμακο και μπορεί να συμπεριφερθεί ως τέτοιο.

Έχουν προταθεί διάφοροι κανόνες που ευνοούν την απορρόφηση των ουσιών κυρίως από του στό-

ματος. Οι περισσότεροι περιλαμβάνουν τη λιποφιλία εκφρασμένη με τον υπολογιστικό συντελεστή μερισμού στο σύστημα οκτανόλης-νερού (logP), το μοριακό βάρος, τους δεσμούς υδρογόνου, αλλά και τον αριθμό των περιστρεφόμενων δεσμών, την πολική επιφάνεια, την αρωματικότητα κλπ. ορίζοντας ανώτατα όρια ή εύρη τιμών.^{15,33}

Η πρόβλεψη της φαρμακο-ομοιότητας και φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων των ενώσεων που απαντώνται στα αιθέρια έλαια των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium* πραγματοποιήθηκε το λογισμικό SwissADME, ένα ελεύθερο πρόγραμμα, προσβάσιμο μέσα από την ιστοσελίδα <http://www.swissadme.ch/index.php>, με αρκετά φιλικό περιβάλλον για τον χρήστη. Διαπιστώθηκε πως από το σύνολο των ενώσεων στην περίπτωση του *Achillea Holosericea* μόλις εννέα ενώσεις μπορούν να δράσουν δυνητικά ως ενώσεις οδηγόι, ενώ στην περίπτωση του *Achillea Millefolium* ο αριθμός των ενώσεων είναι μόλις τέσσερις.

Οι βιοδραστικές ενώσεις του *Achillea Holosericea* που πληρούν ικανοποιητικά τα κριτήρια φαρμακο-ομοιότητας σύμφωνα με τους κανόνες Lipinski, Veber, Egan, Muegge και τις ιδιότητες ADME είναι οι εξής.

1. 11,12,13-τριυδροξυ ευδεσμ-4-εν-3-όνη
2. 3β-ακετοξυ-4(15)-ευδεσμενο-5α,11,12,13-τετραόλη
3. 9-υδροξυ-οξικό φαρνεζύλιο
4. λουτεολίνη
5. χρυσοεριοίλη
6. δεσμεθοξυ κενταυριδίνη
7. κερκετίνη
8. κερκετινο-3-μεθυλαιθέρας
9. κερκετινο-3,3'-διμεθυλαιθέρας

Οι δομές τους παρουσιάζονται στην εικόνα 1.

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα προβλεπόμενα φαρμακοκινητικά αποτελέσματα.

Αντίστοιχα, οι βιοδραστικές ενώσεις του *Achillea Millefolium* που κρίθηκαν κατάλληλες για υποψήφιες ενώσεις-οδηγοί μέσω του SwissADME είναι οι εξής:

- 1 Αχιλλικίνη.
- 2 γ-κουρκουμίνη.

3 Κενταυριδίνη.

4 Σπαθουλενόλη.

Οι δομές τους παρουσιάζονται στην εικόνα 2. Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα προβλεπόμενα φαρμακοκινητικά αποτελέσματα.

Στα σχήματα 1 και 2 παρουσιάζονται τα διαγράμματα όπου όταν οι ιδιότητες του μορίου εμπίπτουν στο κόκκινο εξάγωνο αναμένεται να παρουσιάζουν επιθυμητή βιοδιαθεσιμότητα, σύμφωνα με το λογισμικό SwissADME. Οι ιδιότητες που περιλαμβάνει το διάγραμμα είναι η λιποφιλία (LIPO), το μέγεθος (size), η πολικότητα (POLAR), η διαλυτότητα (INSOLU) όπου εκφρασμένη ως logS δεν πρέπει να υπερβαίνει την τιμή 6, ο αρωματικός χαρακτήρας (INSATU) όπου το κλάσμα των ανθράκων sp^3 δεν πρέπει να είναι μικρότερο από 0,25 και η ευκαμψία (FLEX) των μορίων με τον αριθμό περιστρεφόμενων δεσμών να μη υπερβαίνει το 9. Η χρωματισμένη ζώνη δείχνει τις φυσικοχημικές ιδιότητες που είναι ευνοϊκές για την απορρόφηση από το στόμα.

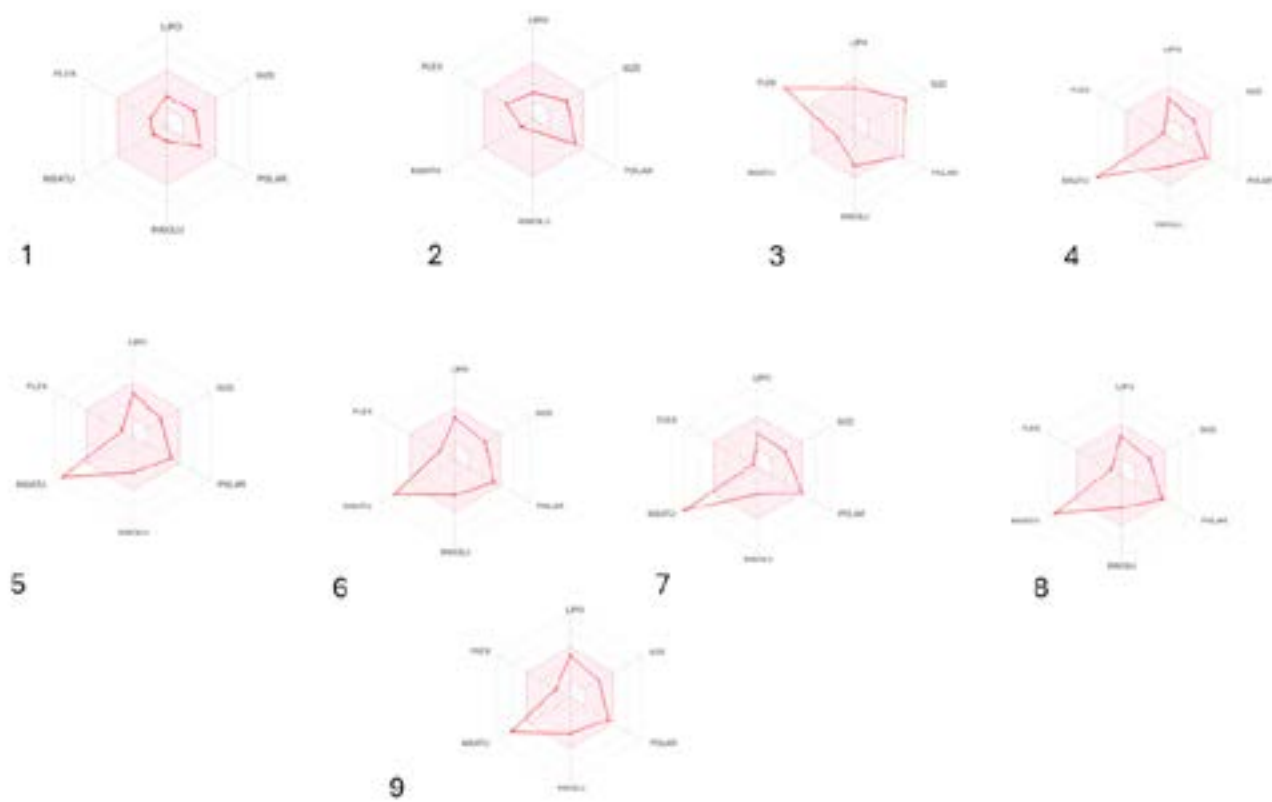
Οι περισσότερες ενώσεις πληρούν τα περισσότερα κριτήρια και είναι εντός της χρωματισμένης περιοχής. Η μόνη ιδιότητα που παραβαίνουν είναι αυτή της ακορεστότητας, υποδεικνύοντας ότι μελλοντικές ενώσεις πρέπει να φέρουν μεγαλύτερο ποσοστό ανθράκων sp^3 .

Σύμφωνα με το pkCSM όλες οι ενώσεις του φυτού *Achillea Holosericea* καλύπτουν τις προϋποθέσεις για διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB permeability), ενώ προβλέπεται ικανοποιητικό ποσοστό απορρόφησης από το γαστρεντερικό σύστημα. Σύμφωνα με το pkCSM οι ενώσεις δεν είναι αναστολείς των ισοενζύμων CYP. Είναι επιθυμητό μια ένωση να μην αποτελεί αναστολέα των ισοενζύμων του κυτοχρώματος P450, ώστε να αποφεύγονται αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα

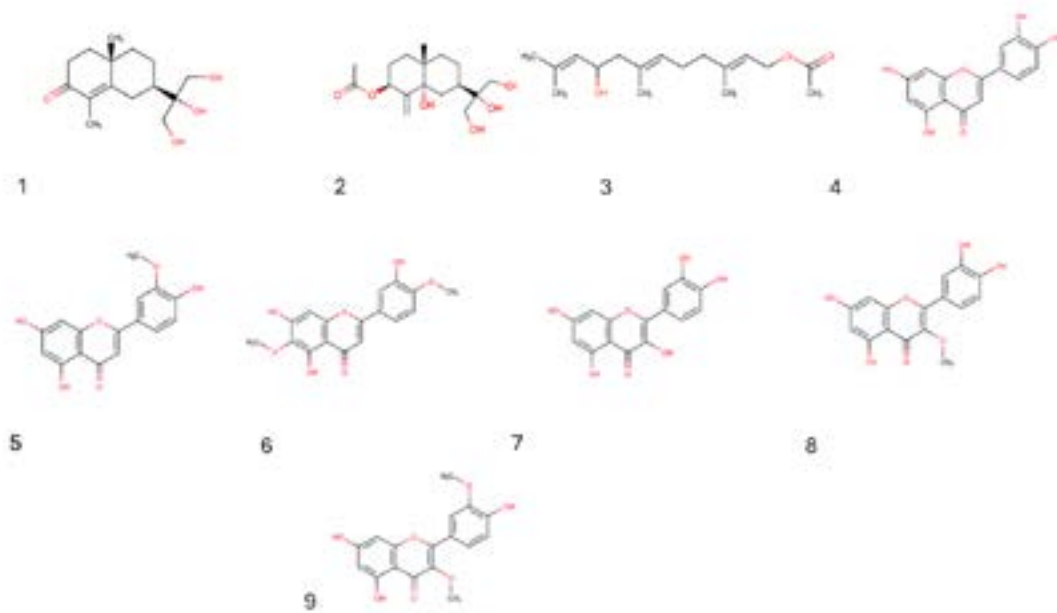
3.2 Μελέτες Τοξικότητας

Με τη βοήθεια της πλατφόρμας pkCSM, στον Πίνακα 6 φαίνεται η διερεύνηση των παραμέτρων της τοξικότητας των παραπάνω ενώσεων στο φυτό του *Achillea Holosericea*.

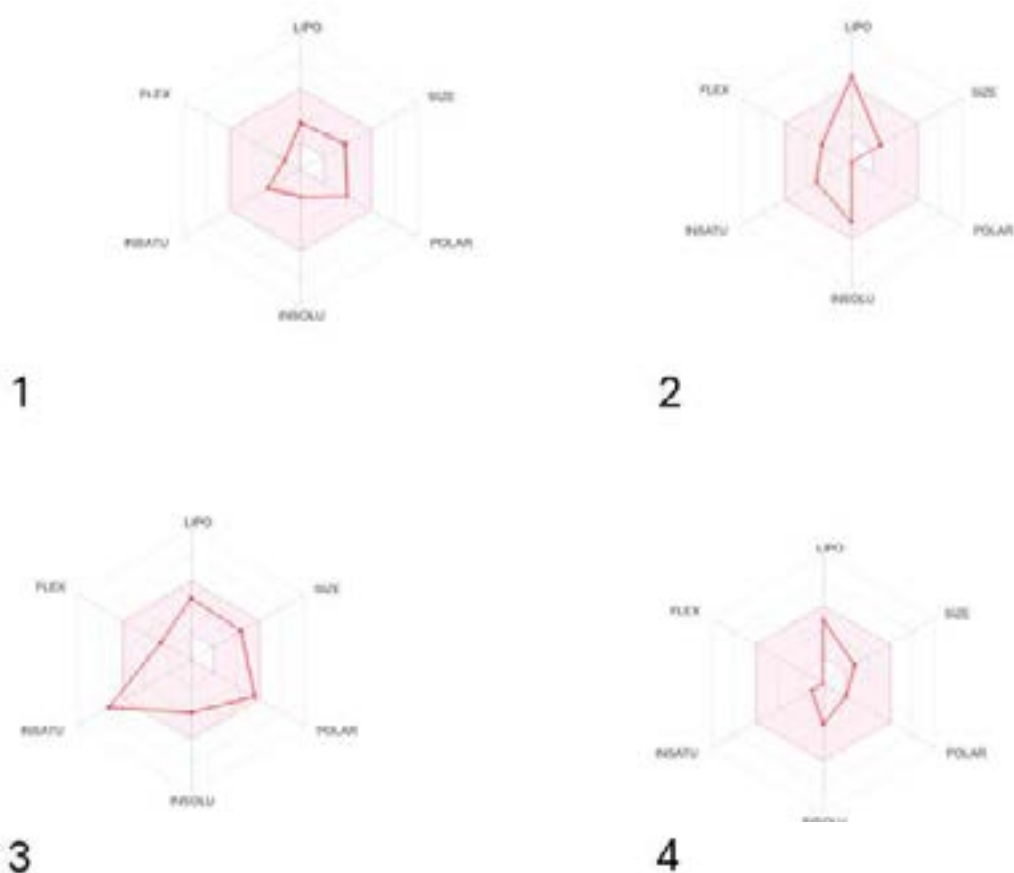
Με τη βοήθεια της πλατφόρμας pkCSM, στον Πίνακα 7 περιγράφεται η διερεύνηση των παραμέ-



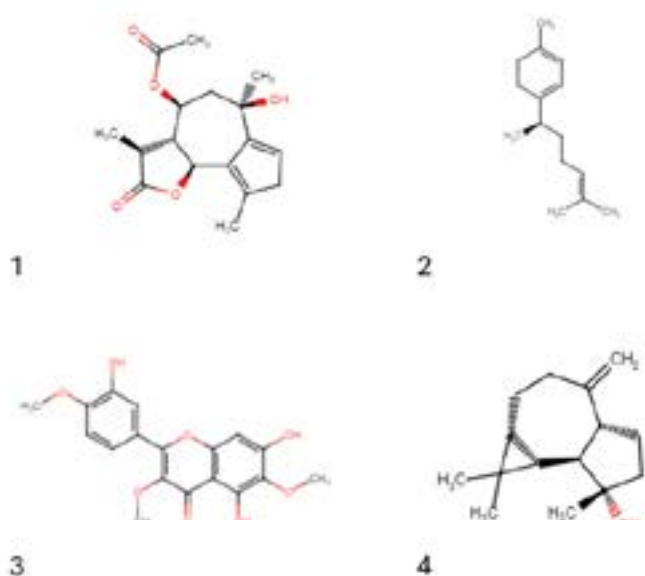
Σχήμα 1. Διάγραμμα φαρμακο-ομοιότητας σύμφωνα με το λογισμικό SwissADME για τις ενώσεις του φυτού *Achillea Holosericea*.



Εικόνα 1: Χημικές δομές των ενώσεων από το φυτό *Achillea Holosericea*.



Σχήμα 2. Διάγραμμα φαρμακο-ομοιότητας σύμφωνα με το λογισμικό SwissADME για τις ενώσεις του φυτού *Achillea Millefolium*.



Εικόνα 2: Χημικές δομές των ενώσεων από το φυτό *Achillea Millefolium*.

Πίνακας 4. Τα προβλεπόμενα φαρμακοκινητικά αποτελέσματα για τις ενώσεις που προέκυψαν από το φυτό *Achillea Holosericea* μέσω του λογισμικού *pkCSM*

Ιδιότητες	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Απορρόφηση									
Διαπερατότητα του Caco2	0.58 (> 0.90) (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	0.003	1.506	0.218	0.321	0.408	0.281	0.518	0.669
Εντερική απορρόφηση (ανθρώπινη)	46.027 (> 30) (%)	62.087	94.058	78.901	82.844	77.673	74.089	79.452	83.909
Διαπερατότητα δέρματος	-3.589 (<-2.5) (log Kp)	-3.412	-2.499	-2.735	-2.735	-2.736	-2.735	-2.735	-2.735
Υπόστρωμα P-γλυκοπρωτεΐνης	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Αναστολέας P-γλυκοπρωτεΐνης I	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Αναστολέας P-γλυκοπρωτεΐνης II	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι
Κατανομή									
VDss (ανθρώπου) Όγκος κατανομής	0.492 (<0.45) (log L/kg)	-0.38	-0.111	-0.218	0.741	0.085	-0.124	0.07	0.043
Αδέσμευτο κλάσμα (ανθρώπινο)	0.467 (Fu)	0.575	0.248	0.103	0.07	0.112	0.109	0.064	0.084
BBB διαπερατότητα	-0.75 (log BB)	-1.15	0.029	-1.326	-0.943	-1.279	-1.49	-1.389	-1.3
CNS(KNS) διαπερατότητα	-2.919 (>-2) (log PS)	-3.871	-1.943	-2.45	-2.32	-3.175	-3.405	-3.406	-3.307
Μεταβολισμός									
CYP2D6 υπόστρωμα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP3A4 υπόστρωμα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP1A2 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
CYP2C19 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP2C9 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι
CYP2D6 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP3A4 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι	Ναι	Όχι	Όχι
Απέκκριση									
Ολική Απομάκρυνση	1.237 (log ml/min/kg)	1.273	1.754	0.556	0.597	0.604	0.523	0.622	0.685
Νεφρικό OCT2 υπόστρωμα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι

τρων της τοξικότητας των παραπάνω ενώσεων στο φυτό *Achillea Millefolium*.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, προκύπτει το συμπέρασμα ότι όλες οι ενώσεις πληρούν τα κριτήρια της τοξικότητας, επομένως είναι κατάλληλες υποψήφιες ενώσεις-οδηγοί.

4. In silico μελέτη μοριακής πρόσδεσης των πιθανών ενώσεων οδηγών των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium*

4.1 Το λογισμικό Autodock

Το λογισμικό AutoDock είναι ένα γνωστό λογισμικό μοριακής πρόσδεσης και χρησιμοποιείται ώστε να μελετηθούν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μικρών μορίων (φάρμακα) και πρωτεϊνικών στόχων. Παρουσιάζει ευρεία χρήση στον τομέα της ανακάλυψης νέων φαρμάκων καθώς προβλέπει τον τρόπο δέσμευσης και τη συγγένεια πρόσδεσης του φαρμάκου με τους πρωτεϊνικούς στόχους χρησιμοποιώντας ως κύριο αλγόριθμο αναζήτησης το Lamarckian Genetic Algorithm (Λαμαρκιανός Γενετικός Αλγόριθμος). Σε αυτόν τον συγκεκριμένο αλγόριθμο αναζήτησης, με τις μεμονωμένες διαμορφώσεις εξερευνάται ανεξάρτητα ο χώρος αναζήτησής τους για να εντοπισθούν τα τοπικά ελάχιστα, ενώ επίσης μεταδίδονται αυτές οι πληροφορίες στην επόμενη γενιά για περαιτέρω βελτιστοποίηση.²¹

Το πρόγραμμα AutoDock³⁴ χρησιμοποιήθηκε ώστε να γίνουν οι υπολογισμοί της μοριακής πρόσδεσης των υποψηφίων ενώσεων-οδηγών των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium* στους παρακάτω στόχους σύμφωνα με το πρόγραμμα SwissTarget: Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας Τύπου 1 (HIV-1)³⁵ Κυκλοοξυγονάση-2 (COX-2),¹⁷ Μονοαμινοξειδάση-A (MAO-A)³⁶ και Μονοαμινοξειδάση-B (MAO-B) και Υποδοχέας αγγειοτασίνης II τύπου 2 (AT-2).³⁷ Ο κύριος ρόλος αυτών των ενζύμων είναι σε αντιφλεγμονώδεις συνθήκες και τραυματισμούς, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη της φλεγμονής και του πόνου. Για τις Μονοαμινοξειδάσες ο κύριος ρόλος τους είναι σε νευρολογικές ασθένειες και ο AT-2 στην καρδιοπροστασία και τη

νευροπροστασία.

Από τη δημόσια βάση δεδομένων RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank), προσβάσιμο μέσα από την ιστοσελίδα <https://www.rcsb.org/>, βρέθηκαν οι κρυσταλλικές δομές των παραπάνω ενζύμων, εκ των οποίων 4 είχαν συν-κρυσταλλωθεί με κάποιο μόριο (Πίνακας 8). (οι συντεταγμένες χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια για τον υπολογισμό της μοριακής πρόσδεσης).

4.2 Αποτελέσματα in silico μελέτης μοριακής πρόσδεσης

Στους Πίνακες 8-21 παρατίθενται τα αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης για την κάθε μία ένωση ξεχωριστά στους 5 βιολογικούς στόχους με τις σταθερές αναστολής που υπολογίστηκαν με βάση το πρόγραμμα Autodock.

Οι παράμετροι ΔG και K_i μας επιτρέπουν να αξιολογήσουμε την ισχύ πρόσδεσης των μορίων στο ένζυμο. Αρνητικότερες τιμές ΔG συνήθως συνδέονται με χαμηλότερες τιμές K_i , υποδεικνύοντας ισχυρότερη και πιο σταθερή σύνδεση.

4.3. Οπτικοποίηση αποτελεσμάτων

Οι χημικοί δεσμοί ανάμεσα στους προσδέτες και στους υποδοχείς μπορεί να είναι ομοιοπολικοί δεσμοί, ιοντικοί δεσμοί, αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου, δεσμοί υδρογόνου, δεσμοί μεταφοράς φορτίου, υδρόφοβοι δεσμοί και δεσμοί Van der Waals. Καλύπτουν όλο το εύρος των δεσμών και θεωρείται ότι σχηματίζονται στιγμιαία όταν ο προσδέτης πλησιάζει τον υποδοχέα σε κατάλληλη απόσταση για σχηματισμό δεσμού. Επιπλέον, θεωρείται ότι η πρόσδεση είναι αρκετά ισχυρή όταν η ενέργεια πρόσδεσης (ΔG_{bind}) του μορίου με τον υποδοχέα είναι μικρότερη από -7 kcal/mol. Μια ενέργεια πρόσδεσης μεταξύ -6 kcal/mol και -7 kcal/mol είναι μετρίως ευνοϊκή, ενώ μια ενέργεια πρόσδεσης μεγαλύτερη από -6 kcal/mol θεωρείται ότι υποδεικνύει μη ικανοποιητική δέσμευση του μορίου με τον υποδοχέα.

Στη συνέχεια, οπτικοποιούνται κάποια από τα

Πίνακας 5. Τα προβλεπόμενα φαρμακοκινητικά αποτελέσματα για τις ενώσεις που προέκυψαν από το φυτό *Achillea Millefolium* μέσω του λογισμικού *pkCSM*

Ιδιότητες	1	2	3	4
<i>Απορρόφηση</i>				
Διαπερατότητα του Caco2	1.209 (> 0.90) (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	1.413	0.757	-1.388
Εντερική απορρόφηση (ανθρώπινη)	97.388 (> 30) (% που απορροφήθηκε)	94.791	76.077	93.235
Διαπερατότητα δέρματος	-3.687 (<-2.5) (log Kp)	-1.235	-2.735	-2.141
Υπόστρωμα P-γλυκοπρωτεΐνης	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι
Αναστολέας P-γλυκοπρωτεΐνης I	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Αναστολέας P-γλυκοπρωτεΐνης II	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι
<i>Κατανομή</i>				
VDss (ανθρώπου)	0.06 (<0.45) (log L/kg)	0.638	0.212	0.522
Κατανομή Όγκου	0.431 (Fu)	0.228	0.067	0.326
Αδέσμευτο κλάσμα (ανθρώπινο)				
BBB διαπερατότητα	-0.281 (log BB)	0.788	-1.352	0.6
CNS(KNS) διαπερατότητα	-2.937 (>-2) (log PS)	-2.111	-3.419	-2.447
<i>Μεταβολισμός</i>				
CYP2D6 υπόστρωμα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP3A4 υπόστρωμα	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι
CYP1A2 αναστολέας	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι
CYP2C19 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι
CYP2C9 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP2D6 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
CYP3A4 αναστολέας	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
<i>Απέκκριση</i>				
Ολική Απομάκρυνση	1.062 (log ml/min/kg)	1.442	0.674	0.895
Νεφρικό OCT2 υπόστρωμα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι

αποτελέσματα της μοριακής πρόσδεσης των μορίων που παρουσίασαν πιο ευνοϊκές τιμές ενέργειας.

Όπως παρουσιάζεται με πράσινο χρώμα στην Εικόνα 3 η αχιλλική αναπτύσσει δεσμό υδρογόνου

με το αμινοξύ GLY434 κατά την πρόσδεση με τη MA-O-B.

Ο κερκετινο-3,3'-διμεθυλαιθέρας παρουσιάζει έναν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ TYR439 και

Πίνακας 6: Μελέτη τοξικότητας βιοδραστικών ενώσεων του φυτού *Achillea Holosericea*.

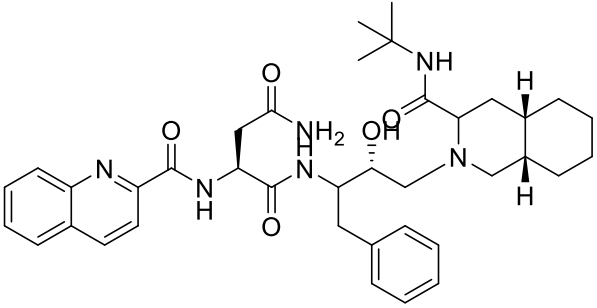
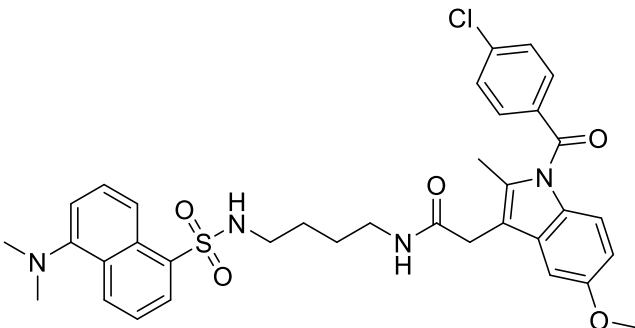
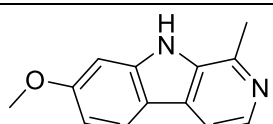
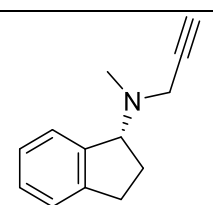
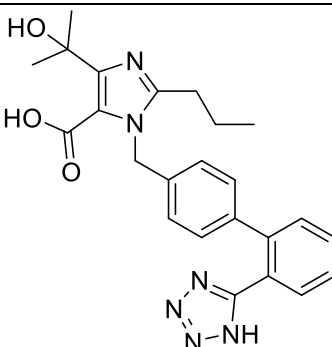
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Τοξικότητα AMES	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Μέγιστη Ανθρώπινη Δόση Ανοχής	1,115	0,792	0,257	0,438	0,436	0,495	0,499	0,519	0,505
Αναστολέας hERG I, II	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Από το Στόμα Οξεία Τοξικότητα (LD ₅₀)	1,764	2,488	2,058	2,482	2,337	2,321	2,471	2,529	2,329
Ηπατοτοξικότητα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Ευαισθητοποίηση δέρματος):	Όχι	Όχι	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Τοξικότητα της <i>Tetrahymena Pyriformis</i>	0,294	0,280	1,815	6,426	0,331	0,333	0,288	0,300	0,321
Τοξικότητα Ψαράκιων-Γωβιών	1,801	3,049	0,503	6,426	1,654	1,318	3,721	2,374	2,098

Με τη βοήθεια της πλατφόρμας pkCSM, στον Πίνακα 3 περιγράφεται η διερεύνηση των παραμέτρων της τοξικότητας των παραπάνω ενώσεων στο φυτό *Achillea Millefolium*.

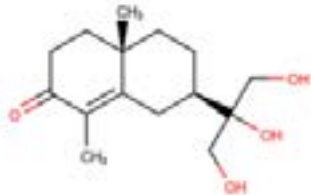
Πίνακας 7: Μελέτη τοξικότητας βιοδραστικών ενώσεων του φυτού *Achillea Millefolium*.

	1	2	3	4
Τοξικότητα AMES	Ναι	Όχι	Όχι	Όχι
Μέγιστη Ανθρώπινη Δόση Ανοχής	0,305	0,277	0,594	0,139
Αναστολέας hERG I, II	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Από το Στόμα Οξεία Τοξικότητα (LD ₅₀)	2,164	1,609	2,286	1,688
Ηπατοτοξικότητα	Όχι	Όχι	Όχι	Όχι
Ευαισθητοποίηση δέρματος):	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι
Τοξικότητα της <i>Tetrahymena Pyriformis</i>	0,451	1,93	0,319	1,118
Τοξικότητα Ψαράκιων-Γωβιών	2,031	0,067	1,860	1,176

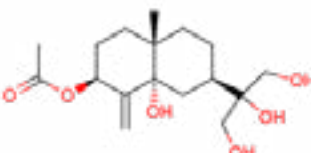
Πίνακας 8: Δομές μορίων που είχαν ήδη συν-κρυσταλλωθεί μέσα στο ένζυμο

Ένζυμο	Μόριο συν-κρυσταλλωμένο
HIV-1 ³⁸	
COX-2 ³⁹	
MAO-A ⁴⁰	
MAO-B ⁴¹	
AT-2 ⁴²	

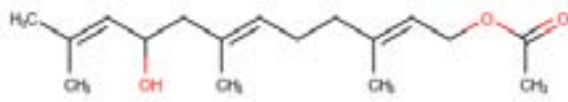
Πίνακας 9: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της 11,12,13-τριυδροξυ ευδεσμ-4-εν-3-όνης.

	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξιδάση A)	-7.37 ± 0.5	3.95 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξιδάση B)	-6.95 ± 0.5	8.04 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοοξυγονάση-2)	-6.30 ± 0.5	24.13 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-4.55 ± 0.5	460.1 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-5.18 ± 0.5	158.35 ± 0.5 μM

Πίνακας 10: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της 3β-ακετοξυ-4(15)-ευδεσμενο-5α,11,12,13-τετραόλης.

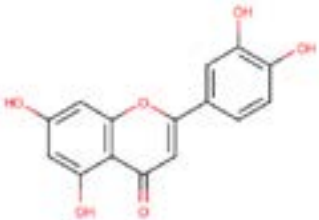
	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξιδάση A)	-9.36 ± 0.5	0.137 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξιδάση B)	-9.07 ± 0.5	0.223 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοοξυγονάση -2)	-8.12 ± 0.5	1.11 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.78 ± 0.5	57.78 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-6.35 ± 0.5	22.29 ± 0.5 μM

Πίνακας 11: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης του 9-υδροξυ-οξικού φαρνεζυλίου.

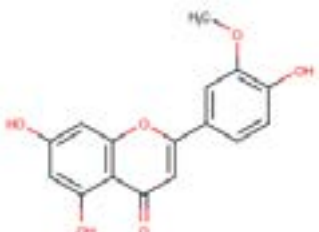
	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξιδάση A)	-7.68 ± 0.5	2.33 ± 0.5 μM

1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-6.12 ± 0.5	32.39 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση 2)	-7.31 ± 0.5	4.39 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-4.82 ± 0.5	294.34 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-6.02 ± 0.5	38.46 ± 0.5 μM

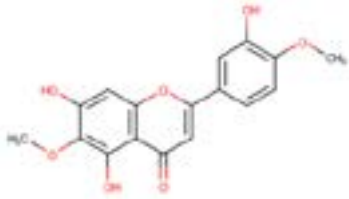
Πίνακας 12: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της λουτεολίνης.

	Ενέργεια δέσμμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.30 ± 0.5	0.827 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-7.85 ± 0.5	1.77 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση-2)	-8.57 ± 0.5	0.520 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.49 ± 0.5	94.41 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-7.16 ± 0.5	5.61 ± 0.5 μM

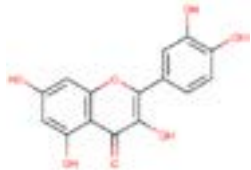
Πίνακας 13: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της χρυσοεριόλης.

	Ενέργεια δέσμμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.31 ± 0.5	0.812 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-8.69 ± 0.5	0.425 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση-2)	-8.92 ± 0.5	0.287 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.98 ± 0.5	41.36 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-6.69 ± 0.5	12.56 ± 0.5 μM

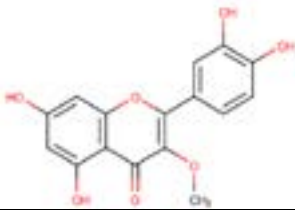
Πίνακας 14: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της δεσμεθοξυ κενταυριδίνης.

	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.54 ± 0.5	0.550 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-8.50 ± 0.5	0.589 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοοξυγονάση-2)	-9.22 ± 0.5	0.175 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.18 ± 0.5	158.30 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-7.18 ± 0.5	5.43 ± 0.5 μM

Πίνακας 15: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της κερκετίνης.

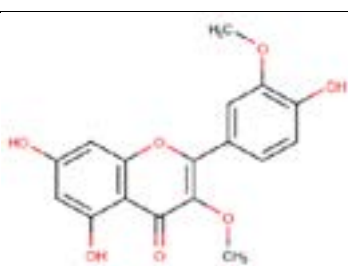
	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.61 ± 0.5	0.487 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-7.86 ± 0.5	1.73 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοοξυγονάση-2)	-8.51 ± 0.5	0.578 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.18 ± 0.5	160.68 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-6.77 ± 0.5	10.82 ± 0.5 μM

Πίνακας 16: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης του κερκετινο-3-μεθυλαιθέρα.

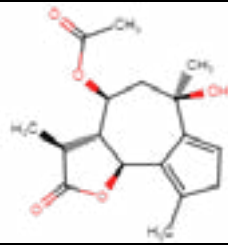
	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-7.87	1.7 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-8.11	1.14 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοοξυγονάση-2)	-8.78	0.366 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.12	176.08 ± 0.5 μM

4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-6.85	9.56 ± 0.5 μM
--	-------	---------------

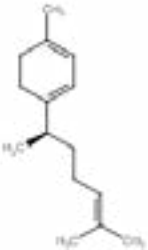
Πίνακας 17: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης του κερκετινο-3,3'-διμεθυλαιθέρα.

	Ενέργεια δέσμησης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.05	1.26 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-9.25	0.165 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση-2)	-8.9	0.299 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-4.93	242.36 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-7.22	5.13 ± 0.5 μM

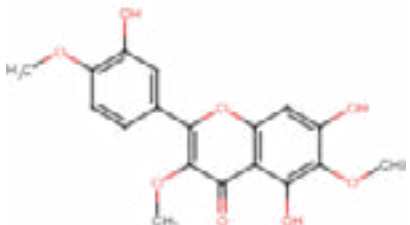
Πίνακας 18: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της αχλλικίνης.

	Ενέργεια δέσμησης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-10.14	0.036.95 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-9.85	0.0605 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση-2)	-9.3	0.152 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-6.19	29.01 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-8.17	1.03 ± 0.5 μM

Πίνακας 19: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της γ-κουρκουμίνης.

	Ενέργεια δέσμησης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.03	1.3 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-7.72	2.19 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση-2)	-8.35	758.0 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.06	196.67 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-6.0	40.17 ± 0.5 μM

Πίνακας 20: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της κενταυριδίνης.

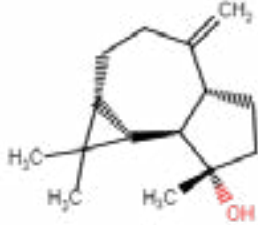
	Ενέργεια δέσμησης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση A)	-8.74	0.392 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση B)	-9.16	0.194 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοξυγονάση-2)	-4.84	281.22 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.36	-0.21 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-7.24	4.93 ± 0.5 μM

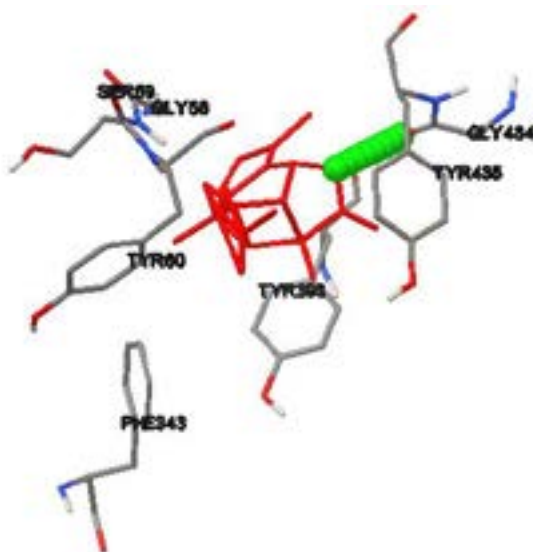
ένα δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ TYR437, κατά την πρόσδεση στη MAO-B όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.

Όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 5, η ίδια ένω-

ση κατά την πρόσδεση με τον με AT1 υποδοχέα αναπτύσσει ένα δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ CYS172, δύο δεσμούς υδρογόνου με το αμινοξύ SER59, έναν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ

Πίνακας 21: Αποτελέσματα μοριακής σύνδεσης της σπαθουλενόλης.

	Ενέργεια δέσμευσης (kcal/mol)	Σταθερά αναστολής
2Z5X (Μονοαμινοξειδάση Α)	-7.99	1.39 ± 0.5 μM
1S3B (Μονοαμινοξειδάση Β)	-7.92	1.57 ± 0.5 μM
6BL3 (Κυκλοοξυγονάση-2)	-8.13	1,1 ± 0.5 μM
3S56 (HIV-1 Πρωτεάση)	-5.61	77.67 ± 0.5 μM
4ZUD (Αγγειοτασίνη II Υποδοχέας Τύπου 2)	-7.88	1.67 ± 0.5 μM

**Εικόνα 3:** Αλληλεπιδράσεις αχιλλικίνης με MAO-B.

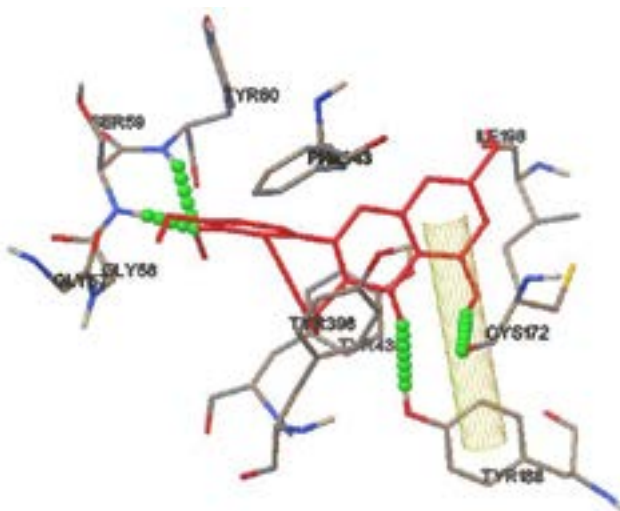
TYR188 και μια π-π αλληλεπίδραση με τον αρωματικό δακτύλιο της. Τέλος, κατά την πρόσδεσή της με την κυκλοοξυγονάση-2 αναπτύσσει ένα δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ HIS90, δύο δεσμούς υδρογόνου με το αμινοξύ SER353 και έναν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ MET522 (Εικόνα 6).

5. Συμπεράσματα

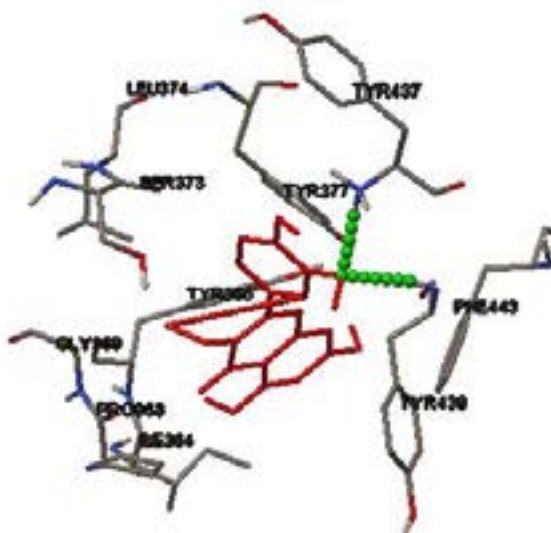
Με τη χρήση τριών λογισμικών εντοπίστηκαν οι ενώσεις – συστατικά των φυτών *Achillea Holosericea* και *Achillea Millefolium* που βρίσκονται εντός των πλαισίων φαρμακοομοιότητας για την από του στόματος



Εικόνα 4: Αλληλεπιδράσεις κερκετινο-3,3'-διμεθυλαιθέρα με MAO-B.



Εικόνα 5: Αλληλεπιδράσεις κερκετινο-3,3'-διμεθυλαιθέρα με AT1 υποδοχέα.



Εικόνα 6: Αλληλεπιδράσεις κερκετινο-3-μεθυλαιθέρα με κυκλοοξυγονάση-2.

χορήγηση, παρουσιάζουν υψηλή γαστρεντερική απορρόφηση, διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και παρουσιάζουν ικανοποιητικό φαρμακοκινητικό προφίλ, και προσδένονται ικανοποιητικά σε τέσσερις από τους πέντε επιλεγμένους στόχους. Η αχιλλικήνη παρουσιάζεται να είναι η ένωση που προσδέεται πιο ισχυρά και στους 5 στόχους, ενώ ασθενέστερη πρόδεδση εμφανίζουν οι ενώσεις στην HIV. Επίσης καμία από τις συγκεκριμένες δεν παρουσιάζει ηπατοτοξικότητα ή

αναστολή στους διαύλους Herg, ενώ μία μόνο είναι θετική σε μεταλλαξιογόνο δράση σύμφωνα με τον έλεγχο AMES.

Τα αποτελέσματα αυτά σχηματίζουν το προφίλ των υπό εξέταση ενώσεων, προσφέρουν χρήσιμες πληροφορίες που μπορεί να αποτελέσουν τη βάση για περαιτέρω έρευνα και υποδεικνύουν τη χρησιμότητα των λογισμικών ανοιχτής πρόσβασης στον σχεδιασμό νέων φαρμακομορίων. □

In silico* Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Studies of Potential Bioactive Natural Products in *Achillea Holosericea* and *Achillea Millefolium

Nikolaos Stavridis^{1,†}, Nikitas Georgiou^{1,†}, Errikos Petsas¹, Anastasios Kalatzis¹, Tzoana Sexou¹, Andreas Tzacos², Anna Tsantili-Kakoulidou^{3*}, Thomas Mavromoustakosa*

^aLaboratory of Organic Chemistry, Department of Chemistry, National and Kapodistrian University of Athens, 15771, Athens, Greece

^bLaboratory of Chemistry and Biochemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, 45110, Ioannina, Greece

³Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, Athens 157 71, Greece

[†] These authors contributed equally to this work.

KEY WORDS:

***Achillea Holosericea*,
Achillea Millefolium,
in silico, Swiss ADME,
pkCSM, molecular
docking, Autodock**

*** CORRESPONDING**

AUTHOR:

Th. Mavromoustakos,
e-mail: tmavrom@chem.uoa.gr
A.Tsantili-Kakoulidou,
e-mail: tsantili@pharm.uoa.gr

ABSTRACT

The use of medicinal plants and their products as a mean to cure diseases is a practice that continues even to this day and has its roots to the early history of mankind. The development of molecular docking alongside the rise of novel computational technologies has managed to considerably reduce the cost of drug development. Thus, molecular docking can be used to predict whether the natural products found in medicinal plants could potentially act as bioactive compounds that could lead to the development of novel drugs. In the present study the chemical compounds that are found at *Achillea Holosericea* and *Achillea Millefolium*, which grow at the geographic area of Epirus, Greece, are collected and examined regarding their pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, as well as their potential use as bioactive compounds. The compounds that show the desired properties are then examined in silico, using the AutoDock software, in order to determine their ability to effectively bind to the desired protein-targets.

Βιβλιογραφία:

1. Magiatis P., Skaltsounis A.-L., Chinou I., Haroutounian S. A. Chemical Composition And In-Vitro Antimicrobial Activity Of The Essential Oils Of Three Greek Achillea Species. *Zeitschrift für Naturforsch. C. 57* (3-4), 287-290, 2002. <https://doi.org/10.1515/znc-2002-3-415>.
2. Si X.-T., Zhang M.-L., Shi Q.-W., Kiyota H. Chemical Constituents of the Plants in the Genus Achillea. *Chem. Biodivers. 3* (11), 1163-1180, 2006. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200690119>.
3. Ali S. I., Gopalakrishnan B., Venkatesalu V. Pharmacognosy, Phytochemistry and Pharmacological Properties of Achillea Millefolium L.: A Review. *Phyther. Res. 31* (8), 1140-1161, 2017. <https://doi.org/10.1002/ptr.5840>.
4. Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polisiou M., Sökmen A., Akpulat H. A. Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of Achillea Millefolium Subsp. Millefolium Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol. 87* (2-3), 215-220, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00149-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00149-1).
5. Barceloux D. G. (2008) *Medical Toxicology of Natural Substances*, Wiley, <https://doi.org/10.1002/9780470330319>.
6. Zahedifar M., Najafian S. Evaluation of Essential Oil Composition and Antioxidant Activity of Yarrow as Influenced by Foliar Application of Humic Substance-Based Products: Using Multivariate Exploratory Method. *Sci. Hortic. (Amsterdam). 308*, 111557, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111557>.
7. Radulović N., Stojanović G., Palić R. Composition and Antimicrobial Activity of Equisetum Arvense L. Essential Oil. *Phyther. Res. 20* (1), 85-88, 2006. <https://doi.org/10.1002/ptr.1815>.
8. Stojanović J. P., Stojanović G. S., Stojanović-Radić Z. Z., Zlatković B. K., Ickovski J. D., Zlatanović I. G., Jovanović S. Č., Mitić, Z. S. Essential Oils of Six Achillea Species: Chemical Profiles, Antimicrobial Potential and Toxicity toward Crustaceans. *Chem. Biodivers. 19* (3), e202100905, 2022. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100905>.
9. Brogi S., Ramalho T. C., Kuca K., Medina-Franco J. L., Valko, M. Editorial: In Silico Methods for Drug Design and Discovery. *Front. Chem. 8*, 612, 2020. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00612>.
10. Meng X.-Y., Zhang H.-X., Mezei M., Cui M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Curr. Comput. Aid-*

- ed-Drug Des.* 7 (2), 146–157, 2011. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>.
11. Lin X., Li X., Lin X. A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design. *Molecules* 25 (6), 1375, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25061375>.
 12. Ekins S., Mestres J., Testa B. In Silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling. *Br. J. Pharmacol.* 152 (1), 9–20, 2007. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>.
 13. Ghose A. K., Viswanadhan V. N., Wendoloski J. J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. *J. Comb. Chem.* 1 (1), 55–68, 1999. <https://doi.org/10.1021/cc9800071>.
 14. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23 (1–3), 3–25, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).
 15. Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H.-Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 45 (12), 2615–2623, 2002. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.
 16. Egan W. J., Merz K. M., Baldwin J. J. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. *J. Med. Chem.* 43 (21), 3867–3877, 2000. <https://doi.org/10.1021/jm000292e>.
 17. Fitzpatrick F. Cyclooxygenase Enzymes: Regulation and Function. *Curr. Pharm. Des.* 10 (6), 577–588, 2004. <https://doi.org/10.2174/1381612043453144>.
 18. 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.* 7, 42717, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
 19. Pires D. E. V., Blundell T. L., Ascher D. B. PKCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med. Chem.* 58 (9), 4066–4072, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
 20. Viana Nunes A. M., das Chagas Pereira de Andrade F., Filgueiras L. A., de Carvalho Maia O. A., Cunha R. L. O. R., Rodezno S. V. A., Maia Filho A. L. M., de Amorim Carvalho F. A., Braz D. C., Mendes A. N. PreADMET Analysis and Clinical Aspects of Dogs Treated with the Organotellurium Compound RF07: A Possible Control for Canine Visceral Leishmaniasis? *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 80, 103470, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103470>.
 21. Georgiou N., Chontzopoulou E., Cheilari A., Katsogiannou A., Karta D., Vavougyiou K., Hadjipavlou-Litina, D., Javornik U., Plavec J., Tzeli D., Vassiliou S., Mavromoustakos T. Thiocarbohydrazone and Chalcone-Derived 3,4-Dihydropyrimidinethione as Lipid Peroxidation and Soybean Lipoxygenase Inhibitors. *ACS Omega* 8(13),11966-11977, 2022. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07625>.
 22. Georgiou N., Gouleni N., Chontzopoulou E., Skoufas G. S., Gkionis A., Tzeli D., Vassiliou S., Mavromoustakos T. Structure Assignment, Conformational Properties and Discovery of Potential Targets of the Ugi Cinnamic Adduct NGI25. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 41(4),1253-1266, 2021. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.2017356>.
 23. Guy R. C. (2005) Ames Test. In *Encyclopedia of Toxicology*, Elsevier, pp 88–91. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369400-0/00057-0>.
 24. Garrido A., Lepailleur A., Mignani S. M., Dallemagne P., Rochais C. HERG Toxicity Assessment: Useful Guidelines for Drug Design. *Eur. J. Med. Chem.* 195, 112290, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112290>.
 25. Wu X., Zhang Q., Hu J. QSAR Study of the Acute Toxicity to Fathead Minnow Based on a Large Dataset. *SAR QSAR Environ. Res.* 27 (2), 147–164, 2016. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2015.1137353>.
 26. Björnsson E. Hepatotoxicity by Drugs: The Most Common Implicated Agents. *Int. J. Mol.*

- Sci.* 17 (2), 224, 2016. <https://doi.org/10.3390/ijms17020224>.
27. Cheng F., Shen J., Yu Y., Li W., Liu G., Lee P. W., Tang Y. In Silico Prediction of Tetrahymena Pyriminiformis Toxicity for Diverse Industrial Chemicals with Substructure Pattern Recognition and Machine Learning Methods. *Chemosphere* 82 (11), 1636–1643, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.043>.
 28. Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. SwissTargetPrediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Res.* 47 (W1), W357–W364, 2019. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>.
 29. Schleinkofer K., Wang T., Wade R. C. (2006) Molecular Docking. In *Encyclopedic Reference of Genomics and Proteomics in Molecular Medicine*, Springer Berlin Heidelberg, pp 1149–1153. https://doi.org/10.1007/3-540-29623-9_3820.
 30. Huey R., Morris G. M., Forli, S. Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial. *Scripps Res. Inst. Mol.* 32, 2012.
 31. Morris G.M, Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function. *J. Comput. Chem.* 19 (14), 1639–1662, 2009. <https://doi.org/10.1002/jcc>.
 32. Morris G. M., Huey R., Olson A. J. Using AutoDock for Ligand-Receptor Docking. *Curr. Protoc. Bioinform.* 24 (1), 1–40, 2008. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>.
 33. Benet L. Z., Hosey C. M., Ursu O., Oprea T. I. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 101, 89–98, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007>.
 34. Georgiou N., Katsogiannou A., Skourtis D., Iatrou H., Tzeli D., Vassiliou S., Javornik U., Plavec J., Mavromoustakos T. Conformational Properties of New Thiosemicarbazone and Thiocarbohydrazide Derivatives and Their Possible Targets. *Molecules* 27 (8), 2537, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27082537>.
 35. Weber I. T., Wang Y.-F., Harrison R. W. HIV Protease: Historical Perspective and Current Research. *Viruses* 13 (5), 839, 2021. <https://doi.org/10.3390/v13050839>.
 36. Youdim M. B. H., Bakhle Y. S. Monoamine Oxidase: Isoforms and Inhibitors in Parkinson's Disease and Depressive Illness. *Br. J. Pharmacol.* 147 (S1) 2006. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706464>.
 37. Guo D. F., Sun Y. L., Hamet P., Inagami T. The Angiotensin II Type 1 Receptor and Receptor-Associated Proteins. *Cell Res.* 11 (3), 165–180, 2001. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290083>.
 38. Tie Y., Wang Y., Boross P. I., Chiu T., Ghosh A. K., Tozser J., Louis J. M., Harrison R. W., Weber, I. T. Critical Differences in HIV-1 and HIV-2 Protease Specificity for Clinical Inhibitors. *Protein Sci.* 21 (3), 339–350, 2012. <https://doi.org/10.1002/pro.2019>.
 39. Xu S., Uddin M. J., Banerjee S., Duggan K., Muses J., Kiefer J. R., Ghebreselasie K., Rouzer C. A., Marnett L. J. Fluorescent Indomethacin-Dansyl Conjugates Utilize the Membrane-Binding Domain of Cyclooxygenase-2 to Block the Opening to the Active Site. *J. Biol. Chem.* 294 (22), 8690–8698, 2019. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.007405>.
 40. Son S.-Y., Ma J., Kondou Y., Yoshimura M., Yamashita E., Tsukihara T. Structure of Human Monoamine Oxidase A at 2.2-Å Resolution: The Control of Opening the Entry for Substrates/Inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105 (15), 5739–5744, 2008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710626105>.
 41. Binda C., Hubálek F., Li, M., Herzig Y., Sterling J., Edmondson D. E., Mattevi A. Crystal Structures of Monoamine Oxidase B in Complex with Four Inhibitors of the N -Propargylaminoindan Class. *J. Med. Chem.* 47 (7), 1767–1774, 2004. <https://doi.org/10.1021/jm031087c>.
 42. Zhang H., Unal H., Desnoyer R., Han, G. W., Patel N., Katritch V., Karnik S. S., Cherezov V., Stevens R. C. Structural Basis for Ligand Recognition and Functional Selectivity at Angiotensin Receptor. *J. Biol. Chem.* 290 (49), 29127–29139, 2015. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.689000>.