

УДК 004:615



Фитохимическое профилирование и оценка *in silico* соединений *Mentha pulegium* L. против метилтрансферазы VP39 вируса оспы обезьян

Ф. Буду¹, А. Белакредар²

¹ Университет науки и технологий Орана,
BP 1505, Бир-эль-Джир 31000, Оран, Алжир

² Университет Мостаганема,
Национальный маршрут № 11, Харуба, Мостаганем, 27000, Алжир

E-mail: farouk.boudou@univ-usto.dz

Получена 24.08.2024

После рецензирования 16.10.2025

Принята к печати 04.05.2026

В исследовании изучен потенциал биологически активных соединений *Mentha pulegium* L. в качестве ингибиторов метилтрансферазы VP39 вируса оспы обезьян. Для идентификации и характеристики фенольных соединений в растительном экстракте была использована высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Вычислительные методы были использованы для прогнозирования сходства и токсичности лекарственных средств, а также для оценки энергий связывания с помощью молекулярного докинга и моделирования динамики.

Цель. Изучить противовирусный потенциал соединений *M. pulegium* против вируса оспы обезьян VP39 путем оценки их сходства с лекарственными препаратами, токсичности и стабильности связывания с помощью вычислительных методов.

Материалы и методы. Различные фенольные соединения *M. pulegium* идентифицированы с помощью ВЭЖХ. Сходство с лекарственными препаратами и токсичность предсказаны с помощью SwissADME, ProTox 3.0 и OSIRIS Property Explorer. С помощью молекулярного докинга оценивали средство выбранных соединений к VP39, а моделирование молекулярной динамики позволило оценить стабильность этих связей с течением времени.

Результаты. Лютеолин и розмариновая кислота продемонстрировали наилучшую степень связывания с VP39, составив $-9,3$ и $-8,7$ ккал/моль соответственно, а также образовывали множественные водородные связи с ключевыми аминокислотными остатками: Ile94, Gly96, Phe115, Val139, Ala158, Lys186 и Tyr189 для лютеолина; Gly68, Ile94, Asp95, Val112, Phe115, Val141 и Asn156 для розмариновой кислоты. Моделирование молекулярной динамики показало, что лютеолин и розмариновая кислота взаимодействуют с умеренно гибкими участками фермента (остатки 67–79 и 243–246), при этом RMSD стабилизируется на уровне около $3,91 \text{ \AA}$ после 5000 пс, что повышает стабильность связывания и свидетельствует о сильном потенциале ингибирующей активности.

Заключение. Полученные данные подчёркивают потенциал лютеолина и розмариновой кислоты *M. pulegium* в качестве перспективных противовирусных веществ в борьбе с вирусом оспы обезьян. Данное исследование является основой для дальнейшего изучения и разработки новых терапевтических стратегий, основанных на этих природных соединениях.

Ключевые слова: *Mentha pulegium* L.; вирус оспы обезьян; метилтрансфераза VP39; молекулярный докинг; молекулярная динамика; сходство с лекарственными препаратами; токсичность

Список сокращений: ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; VP39 — вирусный белок 39; RMSD — среднеквадратичное отклонение; RMSF — среднеквадратичные колебания; MD — молекулярная динамика; ADME — всасывание, распределение, метаболизм и выведение; LD₅₀ — полумлетальная доза; MW — молекулярная масса; WLogP — логарифм Уайлдмена–Криппена; MR — молярная преломляемость.

Для цитирования: Ф. Буду, А. Белакредар. Фитохимическое профилирование и оценка *in silico* соединений *Mentha pulegium* L. против метилтрансферазы VP39 вируса оспы обезьян. *Фармация и фармакология*. 2026;14(3):297-306. DOI: 10.19163/2307-9266-2026-14-3-297-306

© Ф. Буду, А. Белакредар, 2026

For citation: F. Boudou, A. Belakredar. Phytochemical profiling and *in silico* evaluation of *Mentha pulegium* L. compounds against monkeypox virus methyltransferase VP39. *Pharmacy & Pharmacology*. 2026;14(3):297-306. DOI: 10.19163/2307-9266-2026-14-3-297-306

Phytochemical profiling and *in silico* evaluation of *Mentha pulegium* L. compounds against monkeypox virus methyltransferase VP39

F. Boudou¹, A. Belakredar²

¹ University of Science and Technology of Oran,
BP 1505, Bir El Djir 31000, Oran, Algeria

² University of Mostaganem,
Route Nationale N 11, Kharouba, Mostaganem 27000

E-mail: farouk.boudou@univ-usto.dz

Received 24 Aug 2024

After peer review 16 Oct 2025

Accepted 4 May 2026

This study explores the potential of bioactive compounds from *Mentha pulegium* L. as inhibitors of the monkeypox virus methyltransferase VP39. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) was employed to identify and characterize phenolic compounds in the plant extract. Computational methods were used to predict drug-likeness and toxicity and to evaluate binding interactions through molecular docking and dynamics simulations.

The aim. To investigate the antiviral potential of *M. pulegium* compounds against monkeypox virus VP39 by evaluating their drug-likeness, toxicity, and interaction stability through computational approaches.

Materials and methods. Various phenolic compounds in *M. pulegium* were identified using HPLC. Drug-likeness and toxicity were predicted using SwissADME, ProTox 3.0 Tool, and OSIRIS Property Explorer tools. Molecular docking studies assessed the binding affinity of selected compounds with VP39, and molecular dynamics simulations evaluated the stability of these interactions over time.

Results. Luteolin and rosmarinic acid exhibited the highest binding affinities to VP39, with docking scores of -9.3 kcal/mol and -8.7 kcal/mol, respectively, and formed multiple hydrogen bonds with key amino acid residues including Ile94, Gly96, Phe115, Val139, Ala158, Lys186, and Tyr189 for luteolin, and Gly68, Ile94, Asp95, Val112, Phe115, Val141, and Asn156 for rosmarinic acid. Molecular dynamics simulations showed that these compounds interacted with moderately flexible regions of the enzyme (residues 67–79 and 243–246), with the RMSD stabilizing at around 3.91 Å after 5000 ps, enhancing binding stability and suggesting a strong potential for inhibitory activity.

Conclusion. The findings underscore the potential of luteolin and rosmarinic acid from *M. pulegium* as promising antiviral agents against the monkeypox virus. This research provides a foundation for further exploration and development of novel therapeutic strategies based on these natural compounds.

Keywords: *Mentha pulegium* L.; monkeypox virus; methyltransferase VP39; molecular docking; molecular dynamics; drug-likeness; toxicity assessment

Abbreviations: HPLC — High-Performance Liquid Chromatography; VP39 — viral protein 39; RMSD — root mean square deviation; RMSF — root mean square fluctuation; MD — molecular dynamics; ADME — absorption, distribution, metabolism, and excretion; LD₅₀ — median lethal dose; MW — molecular weight; WLogP — Wildman–Crippen LogP; MR — molar refractivity.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус оспы обезьян относится к семейству ортопоксвирусов, наиболее известным представителем которого является «натуральная оспа». Вирус с двухцепочечной ДНК впервые обнаружен у обезьян в 1950-х годах и имеет широкий спектр хозяев, однако чаще встречается у грызунов. Впервые о случаях заболевания среди населения стало известно во время кампании по ликвидации натуральной оспы. Оспа обезьян может передаваться от животных к человеку при укусах, царапинах, контакте с кровью, биологическими жидкостями или сыпью заражённых диких животных (особенно грызунов и приматов), а также при употреблении в пищу плохо приготовленного мяса инфицированных животных [1]. За последние годы вспышки обезьяньей оспы были выявлены в 11 африканских странах,

при этом большинство случаев заболевания зарегистрировано в Демократической Республике Конго. Увеличение числа вспышек заболевания в последние годы может быть связано со снижением иммунитета населения к натуральной оспе с течением времени. Натуральная оспа тесно связана с оспой обезьян, а программы вакцинации против нее прекратились десятилетия назад [2]. Вирус натуральной оспы вызывает инфекционное заболевание, которое может нанести серьёзный вред людям и животным. Начальные симптомы включают лихорадку, головную боль, мышечные боли, увеличение лимфатических узлов и впоследствии истощение. После этих симптомов появляется кожная сыпь, проявляющаяся в виде пузырьков с жидкостью (волдыри), трещинами и корочками [3]. Обычно период между инкубации заболевания составляет

от 7 до 14 сут, а симптомы сохраняются от 2 до 4 нед. Возможны тяжелые случаи, особенно это касается детей, среди беременных женщин и людей с ослабленной иммунной системой [4, 5]. Возможны осложнения, в том числе поражения центральной нервной системы и дыхательных путей в результате возникающего лимфаденита. Сообщалось, что смертность колеблется от 1 до 10%, но может отличаться в зависимости от доступности современной медицинской помощи [2]. Противовирусные препараты против натуральной оспы, обладающие поксвирусной активностью, такие как цидофовир, бринцидофовир и тековиримат, также обладают активностью против оспы обезьян. Последние два препарата были одобрены для использования в терапии оспы Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарствами США (FDA). Применение такой схемы лечения возможно в тяжелых случаях или у лиц с ослабленным иммунитетом, а предоставляется в департаменте общественного здравоохранения или Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC) [2, 6]. Кроме того, вакцины против натуральной оспы эффективны в целях профилактики оспы обезьян и постконтактной профилактики. Незамедлительная профилактическая вакцинация может предотвратить или значительно снизить риск заболевания. Вакцинация иммуноглобулином может быть использована в качестве альтернативы постконтактной профилактике в тех случаях, когда вакцинация против оспы противопоказана [7, 8].

Таким образом, **ЦЕЛЬЮ** исследования является изучение потенциала соединений *Mentha pulegium* L. в качестве ингибиторов метилтрансферазы VP39 вируса оспы обезьян (MPXV).

Следует отметить следующие **задачи**:

1. Идентификация и характеристика биологически активных соединений *M. pulegium* с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ);
2. Прогнозирование взаимодействий с лекарственными препаратами потенциальной токсичности этих соединений для оценки их пригодности в качестве перспективных противовирусных средств;
3. Оценка сродства к связыванию соединения с VP39 с помощью молекулярного докинга;
4. Исследовать стабильность и динамику взаимодействия соединений с VP39 с помощью моделирования молекулярной динамики. Данный подход направлен на выявление перспективных противовирусных препаратов и внесение вклада в разработку новых терапевтических стратегий против инфекций, вызванных вирусом оспы обезьян.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракция и фитохимическое исследование

Высушенные надземные части *M. pulegium* приобретены у поставщика лекарственных растений (Jardin d'Epices, Saïda, Алжир) и идентифицированы ботаником перед использованием в исследовании. Высушенный и измельченный в порошок *M. pulegium* (10 г) подвергали экстракции путем мацерации в метаноле (100 мл) в течение 48 ч. Процесс экстракции включал замену растворителя через 24 ч и постоянное перемешивание с помощью магнитной мешалки. После экстракции мацерат фильтровали через фильтровальную бумагу Whatman No. 1, а полученный фильтрат концентрировали досуха с помощью роторного испарителя. Затем сухой остаток хранили в герметичных контейнерах при температуре 4°C и использовали в анализе. Для фитохимического исследования остаток растворяли в метаноле и фильтровали через мембранный фильтр толщиной 0,45 мкм. Фильтрат анализировали с помощью ВЭЖХ-системы Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США), оснащенной многоволновым детектором в УФ- и видимом диапазоне. Разделение осуществляли на колонке с обращенной фазой Hypersil ODS C18 (250×4,6 мм, 5 мкм) с использованием подвижной фазы, состоящей из ацетонитрила и воды с добавлением 0,2% серной кислоты. Программа градиентного элюирования изменяла процентное содержание растворителей А (ацетонитрил) и В (вода) в течение 28 минут. Сбор и обработка данных проводились с использованием программного обеспечения Chromeleon™ 7.2 (Thermo Fisher Scientific, США) в диапазоне 200–400 нм. Фенольные соединения идентифицированы по времени удерживания и УФ-спектров относительно аналитических стандартов.

Выбор потенциальных лигандов

Выбор потенциальных лигандов для дальнейшего компьютерного анализа основан на биоактивных соединениях, выделенных из *M. pulegium* с помощью ВЭЖХ. Трехмерные (3D) структуры этих соединений получены в формате SDF из базы данных PubChem¹ [9]. Трехмерная структура каждого соединения проверена, а энергопотребление сведено к минимуму с помощью программного обеспечения Open Babel (версия 3.1.1) перед подготовкой к молекулярному докингу и динамическому моделированию для оценки их потенциала в качестве ингибиторов метилтрансферазы вируса оспы обезьян VP39.

¹ PubChem. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Прогнозирование подобия с лекарственными препаратами

Лекарственное подобие выбранных соединений оценено с помощью веб-инструмента SwissADME². Обозначения соединений введены в базу данных для анализа их физико-химических и фармакокинетических характеристик. Оценка направлена на проверку соответствия правилу пяти Lipinski [10] и фильтру Ghose [11]. «Правило пяти» устанавливает критерии для молекул, подобных лекарственным препаратам, включая: наличие не более 5 доноров водородных связей, 10 акцепторов водородных связей, молекулярную массу (MW) менее 500 и коэффициент распределения октанол-вода (log P), равный 5 или менее (или MlogP >4,15). Фильтр Ghose, который дополняет эти рекомендации, учитывает дополнительные параметры, такие как: логарифмическое значение P в диапазоне от -0,4 до +5,6, молярную преломляемость в диапазоне от 40 до 130, молекулярную массу в диапазоне от 180 до 480 и общее количество атомов в диапазоне от 20 до 70 (включая доноры и акцепторы водородных связей).

Оценка риска токсичности

Потенциальная токсичность природных соединений предсказана с помощью вычислительных методов — OSIRIS Property Explorer [12]. Данный инструмент позволяет оценивать природные соединения на мутагенную (MUT), онкогенную (TUM), раздражающую (IRR) и репродуктивную токсичность (RE). OSIRIS Property Explorer проверяет химическую структуру и быстро рассчитывает различные свойства, связанные с лекарственными препаратами. Прогнозы записываются и помечаются цветом: красный цвет обозначает свойства, связанные с высоким риском, а зелёный — свойства, отвечающие за безопасность употребления препаратов [3]. Кроме того, в работе использован инструмент ProTox 3.0 для прогнозирования полудетальной дозы (LD₅₀) в мг/кг для каждого соединения (14).

Выбор мишени и молекулярный докинг

Фитохимические вещества (с благоприятным профилем), которые соответствовали правилу пяти (с максимум одним допустимым нарушением) и критериям фильтра Ghose (без нарушений), отобраны для молекулярного докинга. Белком-мишенью для этого исследования стала метилтрансфераза VP39 — важнейший фермент, участвующий в репликации и патогенности вируса оспы обезьян [15]. Кристаллическая структура фермента (PDB: 8B07) получена из банка данных

RCSB³ (Рис. 1). Подготовка фермента осуществлялась с использованием программного обеспечения Molegro Virtual Docker 2.5, а молекулярный докинг осуществлялся с помощью PyRx-Python 0.8 [16]. Результаты докинга представляли с помощью визуализатора BIOVIA.

Моделирование молекулярной динамики

Анализ в обычном режиме (NMA)

Структура белка проанализирована с помощью iMODS для изучения его конформационной динамики с помощью анализа в нормальном режиме (NMA) и моделирования морфинга [17]. Это позволило получить представление о гибкости белка, моделируя движения в нормальных режимах и визуализируя переходы между состояниями. Также сгенерирована жесткая кластерная декомпозиция, выделенная синим цветом, обозначен самый большой кластер и анимация траекторий движения. Кроме того, данные о деформируемости и B-факторе оценивали конформационные изменения и гибкость, выделяя области с высокой деформируемостью и потенциальные «петли» цепи.

Моделирование структуры белка с помощью NMSIM

Структура белка, соответствующая PDB ID: 8B07, подготовлена для моделирования в обычном режиме (NMSIM) с использованием сервера NMSIM [18]. Структура первоначально получена из PDB и обработана с учетом определенных параметров: предел водородной связи -1 ккал/моль, расстояние гидрофобного предела — 0,35 Å, рассчитанное с использованием метода 3, и управляемый радиус вращения (ROG) для моделирования движения. Метод анализа нормальных колебаний жестких кластеров (RCNMA) использовался с ограничением в 10 Å для атомов C-альфа, учитывая нормальные режимы от 1 до 50, и режим ROG, установленный на 1. Для изучения конформационной гибкости белка проведено моделирование NMSIM. Моделирование включало создание 1 траектории за 1 цикл NMSIM, применение коэффициента искажения боковой цепи, равного 0,3, выполнение 500 циклов моделирования с выходной частотой 1 на цикл и использованием шага, равного 0,5. Получены данные о среднеквадратичном отклонении (RMSD) и среднеквадратичном колебании (RMSF) для оценки конформационных изменений и гибкости белка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация фенольных соединений методом ВЭЖХ

В таблице 1 представлены результаты ВЭЖХ анализа метанолового экстракта

² SwissADME. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.swissadme.ch/index.php>

³ RCSB Protein Data Bank. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.rcsb.org/>

M. pulegium, показывающие потенциальный профиль его фенольных соединений. В качестве преобладающего компонента определена розмариновая кислота (11,30%), затем лютеолин (5,97%) и феруловая кислота (5,47%). Другие известные соединения включали п-кумаровую кислоту (4,01%), рутин (2,80%), ванилиновую кислоту (2,76%), апигенин (2,47%), кверцетин (1,62%) и кофейную кислоту (1,63%). Представленный профиль в значительной степени соответствует предыдущим исследованиям *M. pulegium*, но количественно отличается от них. Например, наш вывод о розмариновой кислоте, как об основном соединении, согласуется с выводами А.М. Al-Rajhi и соавт. [20]. Однако конкретные процентные показатели варьируются, что может быть связано с различиями в происхождении растений, сроках сбора и методах экстракции. Кроме того, наше исследование выявило более широкий спектр флавоноидов, включая лютеолин и апигенин, на поддающихся количественной оценке уровней, что дополняет результаты N.K. Alharbi и соавт. [19] и расширяет известный фитохимический потенциал этого вида. Совместное присутствие этих соединений имеет большое значение, поскольку они широко представлены в литературе в связи выраженной антиоксидантной, противовоспалительной и противовирусной активностей [19, 20]. Высокая концентрация розмариновой кислоты, в частности, заслуживает внимания из-за ее доказанной противовирусной эффективности, что позволяет предположить, что она может играть ключевую роль в потенциальных терапевтических свойствах этого экстракта.

Результаты прогнозирования сходства с лекарственными препаратами

Результаты прогнозирования подобия с лекарственными препаратами представлены в таблице 2.

Результаты оценки риска токсичности

Результаты, представленные в таблице 3, отражают прогнозируемые риски токсичности и

значения LD_{50} различных природных соединений, оцененные с помощью инструментов OSIRIS Property Explorer и ProTox 3.0. Такие соединения, как кофейная кислота, феруловая кислота, синаповая кислота, хлорогеновая кислота, рутин и лютеолин, обладают низким риском токсичности во всех исследуемых категориях, о чем свидетельствует зеленая цветовая маркировка мутагенности, онкогенности, раздражающего действия и репродуктивного эффекта. Эти соединения также демонстрируют высокие значения LD_{50} , при этом хлорогеновая кислота, рутин и розмариновая кислота имеют значение LD_{50} , составляющее 5000 мг/кг, что указывает на их низкую острую токсичность и благоприятный профиль безопасности.

Следует отметить, что некоторые соединения вызывают сомнения касемо их безопасности. Например, кверцетин представляет значительный риск, поскольку его мутагенность и онкогенность отмечены красным цветом в сочетании с относительно низким уровнем $LD_{50}=159$ мг/кг. Это говорит о том, что кверцетин, несмотря на свой терапевтический потенциал, может проявлять токсичность, что следует учитывать при разработке лекарственных препаратов. Данное открытие согласуется с предыдущими исследованиями, которые также определили кверцетин как соединение, обладающее и терапевтическими, и токсикологическими свойствами, что требует тщательного рассмотрения при его использовании в качестве потенциального терапевтического средства [21, 22]. Ванилиновая кислота, хотя и в значительной степени нетоксична, обладает мутагенным риском, аналогичным результатам для апигенина, который, несмотря на общую безопасность, также имеет умеренный уровень LD_{50} (1000 мг/кг), что подчёркивает необходимость регулирования дозы.

Наличие риска репродуктивного эффекта у 3,4,5-триметоксикоричной и п-кумаровой кислот, несмотря на их низкую токсичность, свидетельствует о сложности оценки этих соединений для возможного терапевтического применения.

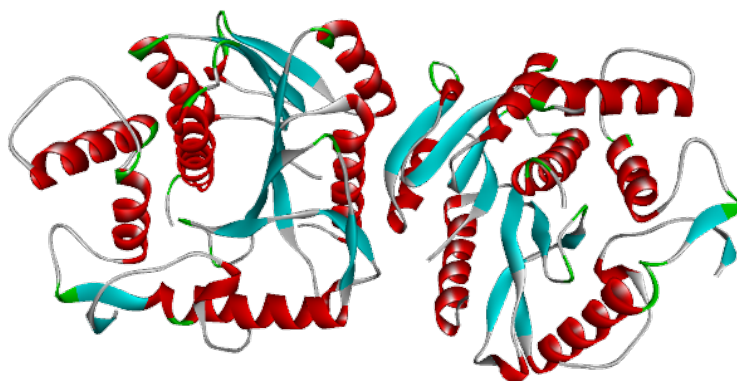


Рисунок 1 — Трёхмерная структура целевого фермента метилтрансферазы VP39 (PDB ID: 8B07).

Таблица 1 — Фитохимическое исследование метанольного экстракта *M. pulegium* методом ВЭЖХ

Время удерживания (мин)	λ max (нм)	Соединения	%
22,383	325/284	Кофейная кислота	1,628
23,136	223/283	Феруловая кислота	5,470
25,606	283	Ванилиновая кислота	2,764
25,862	223/320	Синапиновая кислота	1,828
27,407	345/265/312	Хлорогеновая кислота	2,599
28,802	331	Кверцетин	1,622
29,505	223	—	1,093
30,539	223/326/313	Розмариновая кислота	11,300
33,675	221/344	3,4,5-метоксикоричная кислота	1,344
34,315	261/343/353	Рутин	2,800
35,272	303/223/282/256/353	п-кумаровая кислота	4,010
36,837	342/291	Лютеолин	5,967
37,815	226/302	Апигенин	2,468

Таблица 2 — Прогноз взаимодействия отдельных растительных соединений с лекарственными препаратами с помощью SwissADME

Лиганды	Правило пяти Lipinski	Ghose фильтр
Кофейная кислота	Да; 0 нарушений	Да
Феруловая кислота	Да; 0 нарушений	Да
Ванилиновая кислота	Да; 0 нарушений	Да
Синапиновая кислота	Да; 0 нарушений	Да
Хлорогеновая кислота	Да; 1 нарушение: NH or OH>5	Нет; 1 нарушение: WLogP<-0.4
Кверцетин	Да; 0 нарушений	Да
Розмариновая кислота	Да; 0 нарушений	Да
3,4,5-метоксикоричная кислота	Да; 0 нарушений	Да
Рутин	Нет; 3 нарушения: MW>500, N or O>10, NH or OH>5	Нет; 4 нарушения: MW>480, WLogP<-0.4, MR>130, #атомов>70
п-кумаровая кислота	Да; 0 нарушений	Да
Лютеолин	Да; 0 нарушений	Да
Апигенин	Да; 0 нарушений	Да

Примечание: MW — молекулярная масса; MR — молярная рефракция; NH или OH — количество доноров водородных связей; WLogP — Коэффициент Вильдмана–Криппена.

Таблица 3 — Результаты прогнозирования риска токсичности и LD₅₀, полученные с помощью OSIRIS property explorer и ProTox 3.0

Лиганд	MUT	TUM	IRR	RE	LD ₅₀ (мг/кг)
Кофейная кислота	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	2980
Феруловая кислота	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	1772
Ванилиновая кислота	красный	зелёный	зелёный	зелёный	2000
Синапиновая кислота	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	1772
Хлорогеновая кислота	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	5000
Кверцетин	красный	красный	зелёный	зелёный	159
Розмариновая кислота	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	5000
3,4,5-метоксикоричная кислота	зелёный	зелёный	зелёный	красный	300
Рутин	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	5000
п-кумаровая кислота	зелёный	зелёный	зелёный	красный	2850
Лютеолин	зелёный	зелёный	зелёный	зелёный	2000
Апигенин	красный	зелёный	зелёный	зелёный	1000

Примечание: MUT — мутагенный эффект; TUM — онкогенный эффект; IRR — раздражающее действие; RE — репродукционный эффект; LD₅₀ — полумлетальная доза.

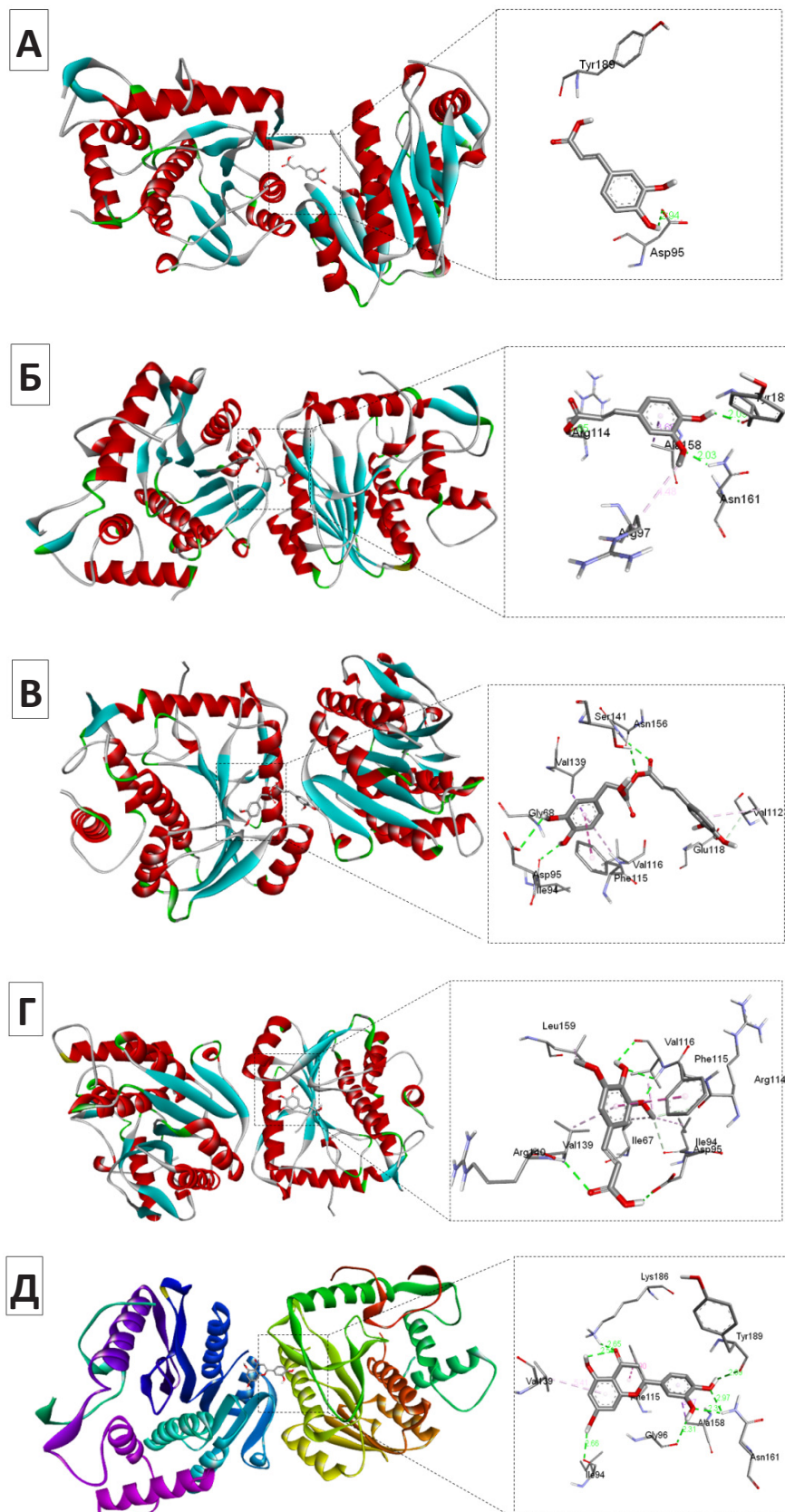


Рисунок 2 — Разновидности петель и активные сайты связывания в комплексах метилтрансфераза VP39–лиганд.

Примечание: виды пель (слева) и сведения о сайте связывания (в левой рамке) отражают взаимодействие фермента с лигандом (в правой рамке). А — комплекс ферментов с кофейной кислотой; Б — комплекс ферментов с феруловой кислотой; В — комплекс ферментов с синапиновой кислотой; Г — комплекс ферментов с розмариновой кислотой; Д — комплекс ферментов с лутеолином.

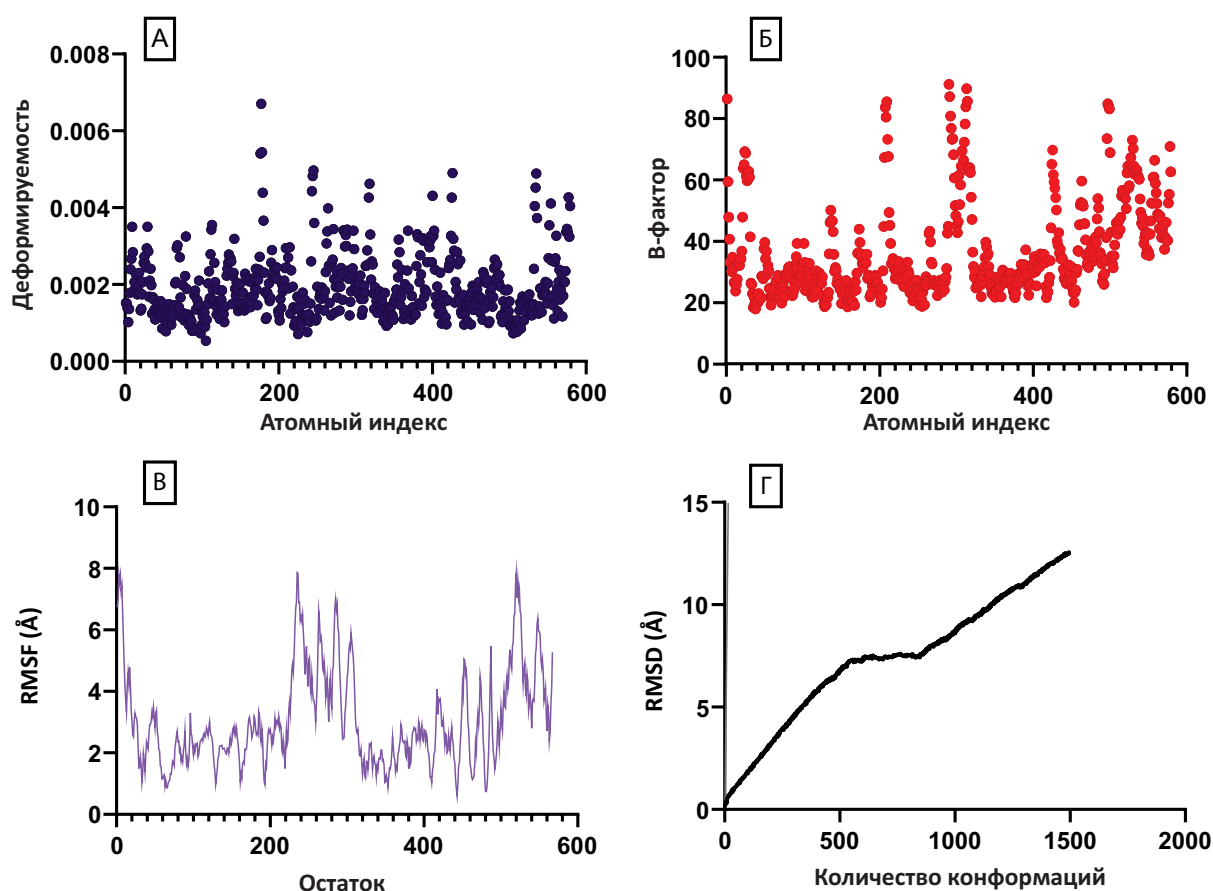


Рисунок 3 — Молекулярно-динамический анализ метилтрансферазы VP39.

Примечание: А — график деформируемости; Б — В-факторный анализ; В — профиль RMSF; Г — траектория RMSD.

Таблица 4 — Энергии связывания идентифицированных молекул и их молекулярные взаимодействия с активным центром белка-мишени

Лиганд	PubChem ID	Химическая формула	Молекулярная масса (g/mol)	Расчетная свободная энергия связывания (ккал/моль)	Взаимодействия с остатками
Кофейная кислота	689043	C ₉ H ₈ O ₄	180,16	-6,5	Ala A:158, Tyr A:189
Феруловая кислота	445858	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,18	-6,6	Arg B:97, Arg A:114, Asn A:161, Tyr A:189, Ala A:158
Синапиновая кислота	637775	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	224,21	-6,4	Ile A:67, Ile A:94, Asp A:95, Arg A:114, Phe A:115, Val A:116, Val A:139, Arg A:140, Leu A:159
Розмариновая кислота	5281792	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	360,31	-8,7	Gly A:68, Ile A:94, Asp A:95, Val B:112, Phe A:115, Val A:141, Asn A:156
Лютеолин	5280445	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,24	-9,3	Ile B:94, Gly B:96, Phe B:115, Val B:139, Ala A:158, Lys A:186, Tyr A:189

Результаты молекулярного докинга

В таблице 4 представлены результаты молекулярного докинга, отражающие энергии связи различных активных соединений. Полученные данные показывают, что лютеолин и розмариновая кислота обладают наибольшим сродством к связыванию с целевым ферментом, с энергиями связывания, равными -9,3 и -8,7 ккал/моль соответственно. Анализ молекулярных взаимодействий показывает,

что лютеолин образует водородные связи с такими остатками, как Ile 94, Gly 96 и Phe 115, и взаимодействует с Val 139, Ala 158, Lys 186 и Tyr 189 посредством дополнительных гидрофобных взаимодействий. Розмариновая кислота взаимодействует с Gly 68, Ile 94, Asp 95, Val 112, Phe 115, Val 141 и Asn 156 как посредством водородных связей, так и гидрофобных взаимодействий. Затем следуют феруловая (-6,6 ккал/моль) и кофейная кислоты

(–6,5 ккал/моль), которые также демонстрируют сильное взаимодействие с остатками, такими как Arg 97, Arg 114, Asn 161, Ala 158 и Tyr 189 для феруловой кислоты и Ala 158 и Tyr 189 для кофейной кислоты. Эти результаты согласуются с другими исследованиями, в которых подчёркивается противовирусный потенциал фенольных соединений, которые нарушают активность вирусных ферментов или внедряются непосредственно в процесс репликации вируса [23, 24]. Рисунок 2, созданный с использованием визуализатора BIOVIA, наглядно представляет связь этих лигандов в активной зоне сайта фермента, включая ленточный вид, который иллюстрирует область связывания и визуализацию взаимодействий между лигандами и аминокислотными остатками фермента.

Результаты молекулярной динамики

Результаты MD-моделирования позволили проанализировать динамику и стабильность комплекса белок-лиганд, что отражено на соответствующих рисунках. График деформируемости (Рис. 3А) и анализ В-фактора (Рис. 3Б) позволяют выделить области различной гибкости в структуре белка. Области с низкой деформируемостью и В-фактором (индексы 1–10, 35–60, 120–140) указывают на стабильные области, имеющие решающее значение для связывания лиганда, в то время как пики с высокой деформируемостью и В-фактором (индексы 7–10, 29–30, 67–79, 243–246) указывают на гибкие области, которые могут влиять на стабильность связи. Сильные лиганды, такие как лютеолин и розмариновая кислота, взаимодействуют с умеренно гибкими участками, усиливая стабильные связи, в то время как лиганды со слабыми связями, такие как феруловая и кофейная кислоты, связываются с более стабильными, но менее динамичными участками. Анализ RMSF (Рис. 3В) показывает, что различные участки белка проявляют различную степень гибкости. Начальные и конечные остатки проявляют высокую

гибкость, вероятно, соответствуя петлям или концам, в то время как область ядра (остатки 31–80) остаётся стабильной, что указывает на структурированное ядро. Центральные и концевые гибкие фрагменты указывают на области, участвующие в связывании лиганда или конформационных изменениях. Наконец, график RMSD (Рис. 3Г) демонстрирует общую структурную стабильность комплекса, при этом начальные колебания стабилизируются на уровне около 3,91 Å после 5000 пс, что указывает на то, что система достигла равновесия. Такая постоянная стабильность на протяжении всего моделирования позволяет предположить, что белок сохранял конформацию без каких-либо серьёзных структурных нарушений, что подчёркивает его надёжность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования успешно идентифицированы и охарактеризованы биологически активные соединения *M. pulegium*, обладающие потенциальным ингибирующим действием на митилтрансферазу VP39 вируса оспы обезьян. Сочетание методов ВЭЖХ, оценки подобия с лекарственными препаратами и рисков токсичности позволили получить полное представление о пригодности исследуемых соединений в качестве потенциальных противовирусных препаратов. Молекулярный докинг показал, что лютеолин и розмариновая кислота демонстрируют наивысшее сродство к связыванию и благоприятные взаимодействия с VP39, в то время как моделирование молекулярной динамики подтвердило их стабильное связывание. Эти данные свидетельствуют о том, что соединения *M. pulegium*, в частности лютеолин и розмариновая кислота, являются перспективными ингибиторами VP39 и потенциальными кандидатами для дальнейшей разработки противовирусных препаратов. Будущие исследования должны быть направлены на подтверждение этих результатов в биологических моделях и изучение их терапевтического потенциала *in vivo*.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Фарук Буду — определение концепции, проведение исследования, формальный анализ, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи; Амаль Белакредар — определение концепции, проведение исследования, визуализация, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Taku A.K., Bhat M.A., Dutta T., Chhabra R. Viral diseases transmissible from non-human primates to man // Indian J Virol. – 2007. – Vol. 18, No. 2. – P. 47–56.
2. Adalja A., Inglesby T. A novel international monkeypox outbreak // Ann Intern Med. – 2022. – Vol. 175, No. 10. – P. 1490–1492. DOI: 10.7326/M22-1581
3. Ligon B.L. Monkeypox: a review of the history and emergence in the Western hemisphere // Semin Pediatr

- Infect Dis. – 2004. – Vol. 15, No. 4. – P. 280–287. DOI: 10.1053/j.spid.2004.09.001
4. Beer E.M., Rao V.B. A systematic review of the epidemiology of human monkeypox outbreaks and implications for outbreak strategy // PLoS Negl Trop Dis. – 2019. – Vol. 13, No. 10. – P. e0007791. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007791
 5. Li D., Wilkins K., McCollum A.M., Osadebe L., Kabamba J., Nguete B., Likafi T., Balilo M.P., Lushima R.S., Malekani J., Damon I.K., Vickery M.C.L., Pukuta E., Nkawa F., Karhemere S., Tamfum J.M., Okitolonda E.W., Li Y., Reynolds M.G. Evaluation of the GeneXpert for human monkeypox diagnosis // Am J Trop Med Hyg. – 2017. – Vol. 96, No. 2. – P. 405–410. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0567
 6. Delaune D., Iseini F. Drug development against smallpox: present and future // Antimicrob Agents Chemother. – 2020. – Vol. 64, No. 4. – P. e01683-19. DOI: 10.1128/AAC.01683-19
 7. Keckler M.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Karem K.L. The effects of post-exposure smallpox vaccination on clinical disease presentation: addressing the data gaps between historical epidemiology and modern surrogate model data // Vaccine. – 2013. – Vol. 31, No. 45. – P. 5192–5201. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.08.039
 8. Yadav R., Chaudhary A.A., Srivastava U., Gupta S., Rustagi S., Rudayni H.A., Kashyap V.K., Kumar S. Mpox 2022 to 2025 Update: A Comprehensive Review on Its Complications, Transmission, Diagnosis, and Treatment // Viruses. – 2025. – Vol. 17, No. 6. – P. 753. DOI: 10.3390/v17060753
 9. Li Q., Cheng T., Wang Y., Bryant S.H. PubChem as a public resource for drug discovery // Drug Discov Today. – 2010. – Vol. 15, No. 23–24. – P. 1052–1057. DOI: 10.1016/j.drudis.2010.10.003
 10. 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. – 2001. – Vol. 46, No. 1-3. – P. 3–26. DOI: 10.1016/S0169-409X(00)00129-0
 11. 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. – 1999. – Vol. 1, No. 1. – P. 55–68. DOI: 10.1021/cc9800071
 12. Chandra S., Chatterjee P., Dey P., Bhattacharya S. Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein // Asian Pac J Trop Biomed. – 2012. – Vol. 2 (1 Suppl). – P. S178–S180. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60154-3
 13. Azad I., Nasibullah M., Khan T., Hassan F., Akhter Y. Exploring the novel heterocyclic derivatives as lead molecules for design and development of potent anticancer agents // J Mol Graph Model. – 2018. – Vol. 81. – P. 211–228. DOI: 10.1016/j.jmgm.2018.02.013
 14. Banerjee P., Kemmler E., Dunkel M., Preissner R. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals // Nucleic Acids Res. – 2024. – Vol. 52, No. W1. – P. W513–W520. DOI: 10.1093/nar/gkae303
 15. Silhan J., Klima M., Otava T., Skvara P., Chalupska D., Chalupsky K., Kozic J., Nencka R., Boura E. Discovery and structural characterization of monkeypox virus methyltransferase VP39 inhibitors reveal similarities to SARS-CoV-2 nsp14 methyltransferase // Nat Commun. – 2023. – Vol. 14, No. 1. – P. 2259. DOI: 10.1038/s41467-023-38019-1
 16. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading // J Comput Chem. – 2010. – Vol. 31, No. 2. – P. 455–461. DOI: 10.1002/jcc.21334
 17. Saldaño T.E., Freixas V.M., Tosatto S.C.E., Parisi G., Fernandez-Alberti S. Exploring Conformational Space with Thermal Fluctuations Obtained by Normal-Mode Analysis // J Chem Inf Model. – 2020. – Vol. 60, No. 6. – P. 3068–3080. DOI: 10.1021/acs.jcim.9b01136
 18. Krüger D.M., Ahmed A., Gohlke H. NMSim web server: integrated approach for normal mode-based geometric simulations of biologically relevant conformational transitions in proteins // Nucleic Acids Res. – 2012. – Vol. 40, Web Server issue. – P. W310–W316. DOI: 10.1093/nar/gks478
 19. Alharbi N.K., Naghmouchi S., Al-Zaban M. Evaluation of Antimicrobial Potential and Comparison of HPLC Composition, Secondary Metabolites Count, and Antioxidant Activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* Extracts // Evid Based Complement Alternat Med. – 2021. – Vol. 2021. – P. 9081536. DOI: 10.1155/2021/9081536. Erratum in: Evid Based Complement Alternat Med. – 2022. – Vol. 2022. – P. 9767418. DOI: 10.1155/2022/9767418
 20. Al-Rajhi A.M.H., Qanash H., Almuhayawi M.S., Al Jaouni S.K., Bakri M.M., Ganash M., Salama H.M., Selim S., Abdelghany T.M. Molecular Interaction Studies and Phytochemical Characterization of *Mentha pulegium* L. Constituents with Multiple Biological Utilities as Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer and Anti-Hemolytic Agents // Molecules. – 2022. – Vol. 27, No. 15. – P. 4824. DOI: 10.3390/molecules27154824
 21. Khan M.A., Gupta K.K., Singh S.K. A Review on Pharmacokinetics Properties of Antiretroviral Drugs to Treat HIV-1 Infections // Curr Comput Aided Drug Des. – 2021. – Vol. 17, No. 7. – P. 850–864. DOI: 10.2174/1573409916666201006143007
 22. Tiwari R., Siddiqui M.H., Mahmood T., Farooqui A., Bagga P., Ahsan F., Shamim A. An exploratory analysis on the toxicity and safety profile of polyherbal combination of curcumin, quercetin and rutin // Clin Phytosci. – 2020. – Vol. 6. – P. 82. DOI: 10.1186/s40816-020-00206-8
 23. Cunningham P., Patton E., VanderVeen B.N., Unger C., Aladhani A., Enos R.T., Madero S., Chatzistamou I., Fan D., Murphy E.A., Velázquez K.T. Sub-chronic oral toxicity screening of quercetin in mice // BMC Complement Med Ther. – 2022. – Vol. 22, No. 1. – P. 279. DOI: 10.1186/s12906-022-03758-z
 24. Montenegro-Landívar M.F., Tapia-Quirós P., Vecino X., Reig M., Valderrama C., Granados M., Cortina J.L., Saurina J. Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview // Sci Total Environ. – 2021. – Vol. 801. – P. 149719. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149719
 25. Hassan S.T.S., Šudomová M., Mazurakova A., Kubatka P. Insights into Antiviral Properties and Molecular Mechanisms of Non-Flavonoid Polyphenols against Human Herpesviruses // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23, No. 22. – P. 13891. DOI: 10.3390/ijms232213891

АВТОРЫ

Фарук Буду — доктор философии, кафедра прикладной молекулярной генетики, факультет естественных и биологических наук, Университет науки и технологий Орана (Алжир). ORCID ID: 0000-0002-6008-3325. E-mail: farouk.boudou@univ-usto.dz

Амаль Белакредар — доктор биотехнологии, доцент кафедры биотехнологии факультета естественных наук и жизни, Университет Мостаганема (Алжир). ORCID ID: 0000-0003-0997-690X. E-mail: belakredar-amel@hotmail.fr