

# Análisis computacional de la interacción *in silico* de la Agatisflavona con la región de trimerización de la proteína espícula (S) del SARS-CoV-2

Gayozo, E.<sup>1\*</sup>; Rojas, L.<sup>2</sup>; López, M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo – Paraguay

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo – Paraguay

<sup>3</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Biotecnología, San Lorenzo – Paraguay

\*E-mail del autor: elviologo@gmail.com

---

**Análisis computacional de la interacción *in silico* de la Agatisflavona con la región de trimerización de la proteína espícula (S) del SARS-CoV-2.** La glicoproteína de la espícula (S) es una de las proteínas más importantes para el virus SARS-CoV-2 porque cumple un rol fundamental en etapas iniciales de la infección viral y es considerado un blanco molecular importante para el desarrollo de nuevos fármacos o vacunas. En este estudio se reporta la interacción *in silico* del biflavonoide Agatisflavona con la proteína S del SARS-CoV-2. Para ello se llevaron a cabo pruebas de acoplamiento molecular entre la Agatisflavona y la espícula S en diferentes conformaciones (abierta y cerrada) a modo de determinar y caracterizar los sitios de interacción y los residuos implicados. Los resultados obtenidos sugieren que la Agatisflavona presenta mayores afinidades de unión por el sitio de trimerización del homotrímero viral, con valores favorables de energía unión ( $\Delta G_b$ ) de  $-10,21 \pm 0,52$  kcal.mol<sup>-1</sup> y  $-11,19 \pm 0,16$  kcal.mol<sup>-1</sup>. Estos hallazgos sugieren que la presencia del biflavonoide en interacción con la región de trimerización podría también actuar como bloqueante del ensamblaje de la espícula en su estructura cuaternaria pudiendo interferir con el ciclo replicativo viral, por lo tanto, la Agatisflavona puede ser considerada para estudios experimentales.

**Palabras claves:** Glicoproteína S, interacción molecular, COVID-19, biflavonoide

**Computational analysis of the *in silico* interaction of Agathisflavone with the trimerization region of the spike protein (S) of SARS-CoV-2.** The spicule (S) glycoprotein is one of the most important proteins for SARS-CoV-2 virus because it plays a critical role in early stages of viral infection and is considered an important molecular target for the development of new drugs or vaccines. In this study we report *in silico* interaction of the biflavonoid Agathisflavone with the S protein of SARS-CoV-2. For this purpose, molecular docking tests were carried out between Agathisflavone and the spike protein in different conformations (open and closed) in order to determine and characterize the interaction sites and residues involved. Results obtained suggest that Agathisflavone exhibits higher binding affinities for the trimerization site of the viral homotrimer, with favorable binding energy ( $\Delta G_b$ ) values of  $-10.21 \pm 0.52$  kcal.mol<sup>-1</sup> and  $-11.19 \pm 0.16$  kcal.mol<sup>-1</sup>. These findings suggest that the presence of the biflavonoid in interaction with the trimerization region could also act as a blocker of the assembly of the spike into its quaternary structure and could interfere with the viral replicative cycle, therefore, Agathisflavone can be considered for experimental studies.

**Keywords:** Glycoprotein S, molecular interaction, COVID-19, biflavonoid

---

## INTRODUCCIÓN

Las plantas son fuentes naturales de sustancias bioactivas, muchas de ellas con capacidades antivirales, por ello son ampliamente estudiadas con la finalidad de encontrar nuevas moléculas con potencial farmacológico (Shakya, 2016). La Agatisflavona es un biflavonoide que se encuentra en especies regionales como *Caesalpinia pyramidalis*, *Ouratea semiserrata*, *Ouratea hexasperma*, *Ouratea polyantha*, *Anacardium occidentale* y *Araucaria bidwillii*, y ha presentado antecedentes de actividades antivirales contra la Influenza A (H1N1, H3N2), Influenza B, Adenovirus tipo V, virus de la Parainfluenza tipo III, virus sincitial respiratorio, virus del Herpes (HSV-1, HSV-2, HCMV, VZV) y virus del Dengue (DENV2, DENV3) (Islam *et al.*, 2019). Se ha descrito que la misma es capaz de interactuar con varias proteínas virales de forma no competitiva inhibiendo de esta manera la actividad de las mismas (de Freitas *et al.*, 2020; de Sousa *et al.*, 2015; Islam *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 1999).

Recientemente, Lokhande *et al.* (2020) han descrito en un estudio computacional las afinidades de interacción que presenta los biflavonoides de la *Rhus succedanea* por el sitio catalítico de la proteasa del virus SARS-CoV-2, entre estos los que demostraron resultados favorables de interacción fueron la Agatisflavona y la Amentoflavona.

Una de las proteínas más importantes del SARS-CoV-2 es la glicoproteína de la espícula (S), considerada una proteína de fusión homotrimérica de tipo I, que se encuentra conformada por tres cade-

nas (A, B, C) que interaccionan entre sí (trimerización) para revelar en su estructura dos dominios (S1 y S2) (Bosch *et al.*, 2003; Li, 2016). En el dominio S1 encontramos al segmento más importante de la proteína viral que es el RBD (dominio de unión al receptor) y el dominio N-terminal (NTD); en el dominio S2 se localizan en conjunto los dominios FP (péptido de fusión), HR1 (repetición heptad 1), HR2 (repetición heptad 2), CH (hélice central), CD (dominio conector), TM (dominio transmembranoso) y el dominio C-terminal (CTD) (Beniac *et al.*, 2006; Li, 2016; Wrapp *et al.*, 2020).

Uno de los procesos fundamentales en la infección del SARS-CoV-2 a las células humanas es el reconocimiento entre la glicoproteína de la espícula (dominio RBD) y la proteína ACE2 (Enzima Conversora de Angiotensina 2), específicamente con el dominio PD (dominio peptidasa) de la futura célula hospedera (Lan *et al.*, 2020). Posteriormente se da lugar al clivaje de la glicoproteína encaminándose a la estructura postfusión, seguido de la internalización del virus al citoplasma de la célula infectada para luego continuar con el proceso de replicación viral (Wrapp *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2020).

Debido al importante rol que cumple esta glicoproteína, se ha convertido en uno de los blancos fundamentales para la comunidad científica en la búsqueda y desarrollo de vacunas o potenciales fármacos/moléculas bioactivas con capacidades antivirales (Sternberg y Naujokat, 2020). La interacción de proteínas (anticuerpos) o moléculas pequeñas podrían neutralizar a la espícula viral, interferir con la unión receptor-ligando, desesta-

bilizar a la estructura de la glicoproteína viral o bloquear su maduración (trimerización), y por lo consiguiente lograr disminuir o contener la carga replicativa del virus en el infectado mediante el impedimento del proceso de reconocimiento virus-células hospederas (Bongini *et al.*, 2020; Fakih, 2020; Sternberg y Naujokat, 2020; Toelzer *et al.*, 2020; Vankadari, 2020).

En este estudio se registra *in silico* las afinidades de interacción de la Agatisflavona por el sitio de trimerización de la espícula S del SARS-CoV-2, tanto en las conformaciones abierta y cerrada del dominio RBD los cuales presentan los cambios conformaciones en la estructura proteica. Por lo que la misma podría bloquear o afectar al proceso de trimerización de la proteína viral. Se espera con esta investigación poder contribuir con la búsqueda y desarrollo de nuevas terapias que ayuden a combatir a la COVID-19.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Acoplamiento molecular entre la Agatisflavona y la espícula del SARS-CoV-2**

Se empleó el diseño metodológico descrito en el esquema de la Figura 1. Primeramente, se realizó la identificación de los sitios drogables presentes en la región de trimerización de la espícula viral del SARS-CoV-2 en sus diferentes conformaciones de la glicoproteína (ectodominio RBD abierto y cerrado) (PDB: 6VSB, 6VXX respectivamente) para ello se empleó la herramienta DoG-SiteScorer (Volkamer *et al.*, 2012).

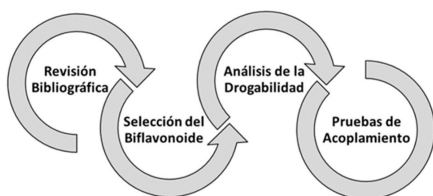
La estructura molecular de la gli-

coproteína S del SARS-CoV-2 en sus conformaciones del ectodominio RBD abierto y cerrado (PDB: 6VSB, 6VXX) fueron obtenidas de la base de datos Protein Data Bank (Berman *et al.*, 2000). Se eliminaron estructuras químicas que no fueran de naturaleza proteica (agua, iones), empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2019).

La estructura molecular de la Agatisflavona (CID: 5281599) se obtuvo de la base de datos PubChem (Kim *et al.*, 2016). Se procedió a aplicar campo de fuerza UFF (Universal Force Field) y el algoritmo de optimización de gradientes conjugados a la estructura de la Agathisflavona. Posteriormente, se proporcionaron cargas parciales a las estructuras teniendo en cuenta los átomos de hidrógeno (H) polares presentes a pH fisiológico de 7,4, para esto se empleó el programa Avogadro (Hanwell *et al.*, 2012).

Las pruebas de acoplamiento molecular del tipo proteína-ligando entre la proteína S del SARS-CoV-2 (RBD abierto, cerrado) y la molécula de Agatisflavona fueron realizadas en una grilla de acoplamiento de 119x120x169 Å<sup>3</sup> y 119x125x158 Å<sup>3</sup> respectivamente, estas se llevaron a cabo de forma exhaustiva (exhaustividad=20) en un total de cincuenta repeticiones empleando el programa AutoDock Vina (Trott y Olson, 2010).

La visualización y el análisis de los modelos resultantes de las pruebas de acoplamiento se llevaron a cabo utilizando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2019).



**Figura 1.** Esquema metodológico del estudio

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de sitios drogables presentes en la región de trimerización reveló la presencia de un sitio altamente drogable con puntajes de drogabilidad de entre 0,80-0,81 con un volumen promedio de 3536,71 Å<sup>3</sup>, superficie de 3624,07 Å<sup>2</sup> y una profundidad de 38,85 Å, contra el cual se dirigieron los ensayos computacionales de acoplamiento molecular.

Las pruebas de acoplamiento entre la Agatisflavona y la proteína S del SARS-CoV-2 con el ectodominio RBD abierto evidenciaron que el biflavonoide presenta afinidad de unión por el dominio S2 de la proteína S (Figura 2A, B). Se revelaron tres modos de acoplamiento molecular en sitios diferentes en la proteína viral, sin embargo, el más favorable fue el primer modelo que presentó el valor de la energía de unión ( $\Delta G_b$ ) igual a  $-10,21 \pm 0,52$  kcal.mol<sup>-1</sup>.

Los otros dos modelos restantes de interacción presentaron energías de acoplamiento iguales a  $-9,85 \pm 0,34$  kcal.mol<sup>-1</sup> y  $-9,71 \pm 0,31$  kcal.mol<sup>-1</sup>, los cuales son ligeramente mayores a lo observado en el modelo más favorable. Este último exhibió afinidades de interacción por el sitio de trimerización de la proteína viral, específicamente por residuos de la cadena A y cadena B, lo cual permite su

localización en el mencionado sitio (Figura 2C, D).

Se registró la participación activa de los residuos Gln1010, Arg1014 y Gln954 presentes en la cadena A, y de los residuos Arg765, Glu773 y Lys776 de la cadena B de la proteína viral (Figura 2E).

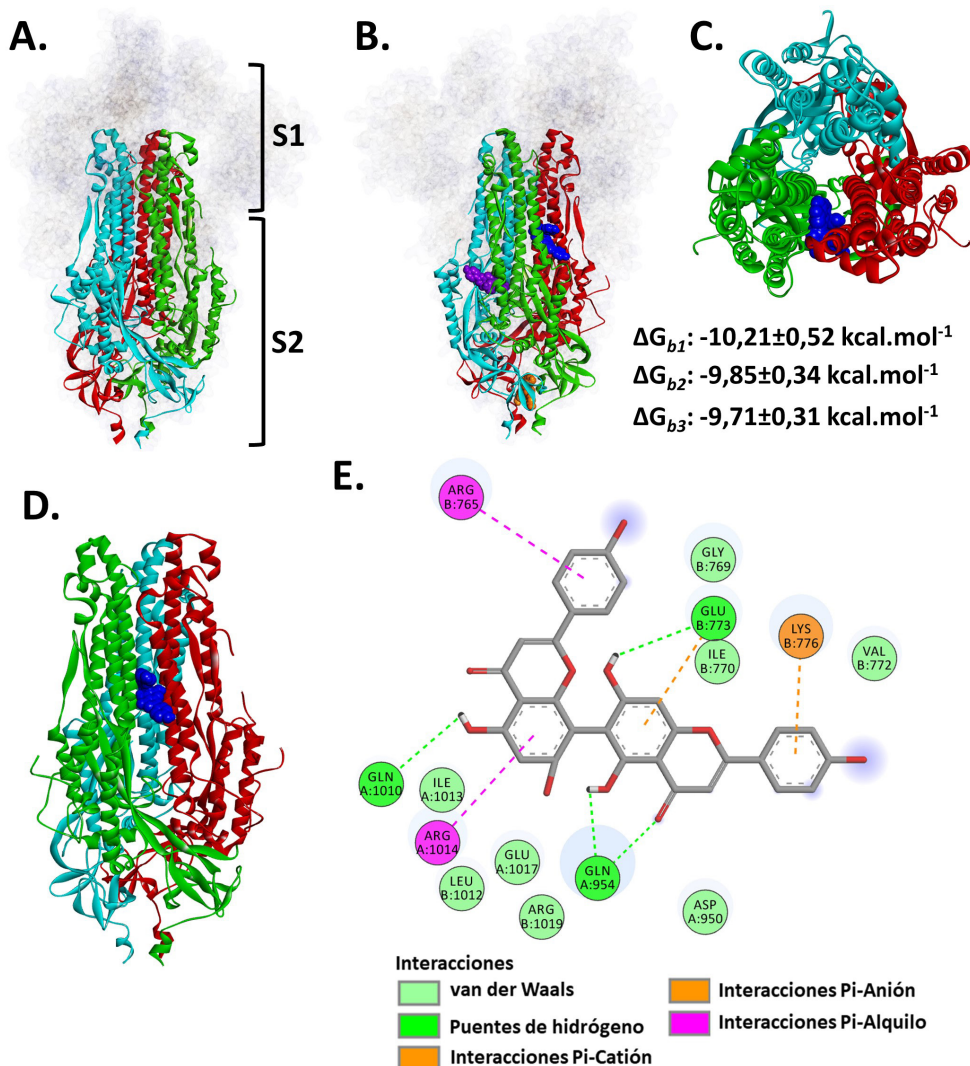
Se registró la formación de puentes de hidrógeno entre la Agatisflavona y los residuos Gln1010(A), Gln954(A) y Glu773(B). Se pudo identificar la formación de interacciones electrostáticas entre la Agatisflavona y el residuo Lys776(B) (interacciones del tipo Pi-Catión) y con el residuo Glu773(B) (interacciones del tipo Pi-Anión).

También se observó la formación de interacciones hidrofóbicas entre enlaces Pi y cadenas de alquilo de los residuos Arg1014(A) y Arg765(B). El sitio bolsillo del acoplamiento se conforma por la Ile1013(A), Glu1017(A), Asp950(A), Gly769(B), Ile770(B), Val772(B), Leu1012(B) y Arg1019(B).

Las pruebas de acoplamiento molecular realizadas entre la Agatisflavona y la glicoproteína S con la conformación cerrada del dominio RBD evidenciaron también afinidades por el dominio S2 de la proteína viral, específicamente por las cadenas A, B y C (Figura 3A, B).

Se registró la formación de tres modos de acoplamientos con diferentes sitios de interacción con la proteína viral. El modelo más favorable de acoplamiento presentó el menor valor de energía de unión igual a  $-11,19 \pm 0,16$  kcal.mol<sup>-1</sup>, donde la Agatisflavona exhibió afinidades por residuos presentes en las cadenas B y C (Figura 3C, D).

Los otros modos presentaron valores

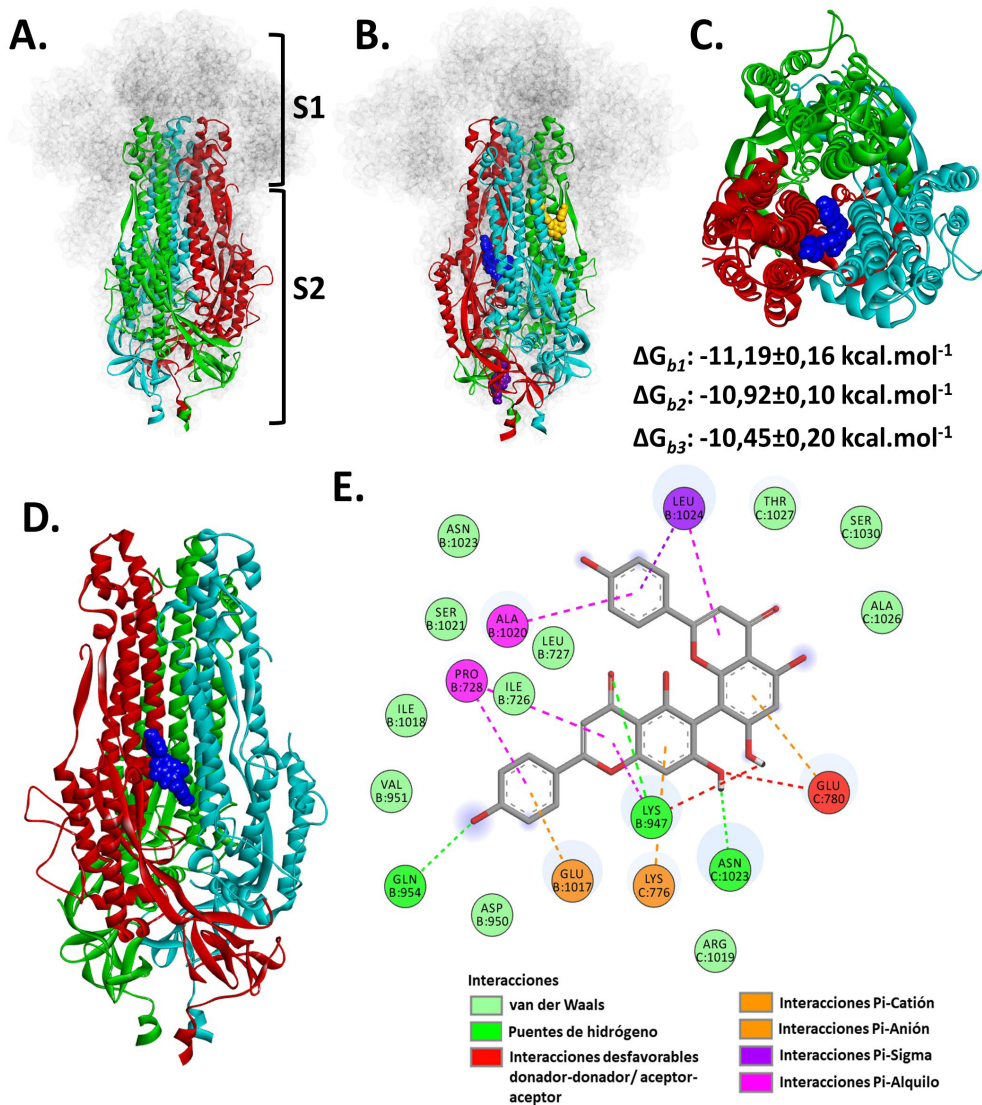


**Figura 2.** Sitio de unión de la Agatisflavona en la glicoproteína S del SARS-CoV-2 en conformación del ectodominio RBD abierto. A. Representación tridimensional del sitio de trimerización de la proteína S del virus. Verde: Cadena A, Rojo: Cadena B, Cian: Cadena C, Dominios S1 y S2. B. Modo de acoplamiento molecular de la Agatisflavona, sitio 1: modelo azul, sitio 2, modelo naranja, sitio 3: modelo lila,  $\Delta G_b$ : energía libre de unión. C, D. Vista superior y lateral del sitio más favorable de interacción de la Agatisflavona (modelo azul). E. Representación bidimensional del modelo de acoplamiento más favorable. A: Cadena A, B: Cadena B

de energía libre de unión de  $-10,92 \pm 0,10$  kcal.mol $^{-1}$  y  $-10,45 \pm 0,20$  kcal.mol $^{-1}$ . Los residuos activos involucrados en el acoplamiento fueron Ala1020, Pro728, Glu1017, Lys947, Gln954 y Leu1024

de la cadena B y los residuos Asn1023, Lys776 de la cadena C. Se detectó la formación de puentes de hidrógeno entre la Agatisflavona y los residuos Gln954(B), Lys947(B) y Asn1023(C).





**Figura 3.** Sitio de unión de la Agatisflavona en la glicoproteína S del SARS-CoV-2 en conformación del ectodominio RBD cerrado. **A.** Representación tridimensional del sitio de trimerización de la proteína S del virus. Verde: Cadena A, Rojo: Cadena B, Cian: Cadena C, dominios S1 y S2. **B.** Sitios de acoplamiento de la molécula Agatisflavona, sitio 1: modelo azul, sitio 2, modelo naranja, sitio 3: modelo lila,  $\Delta G_b$ : energía libre de unión. **C.** Vista superior y lateral del sitio favorable de interacción de la Agatisflavona (modelo azul). **E.** Representación bidimensional del modelo de acoplamiento más favorable. B: Cadena B, C: Cadena C

También se identificó la formación de interacciones electrostáticas entre la Agatisflavona y los residuos Glu1017(B)

(interacción Pi-Anión) y Lys776(C) (interacción Pi-Catión). Además de la formación de interacciones hidrofóbicas

entre la molécula Agatisflavona y los residuos Ala1020(B), Pro728(B) (interacciones Pi-Alquilo) y Leu1024(B) (interacciones Pi-Alquilo, interacciones Pi-Sigma). Es importante destacar también que se identificó la existencia de interacciones desfavorables con el residuo Glu780(C). El sitio bolsillo de interacción se conforma por los residuos Asn1023(B), Ser1021(B), Leu727(B), Ile726(B), Ile1018(B), Val951(B), Asp950(B), Arg1019(C), Ala1026(C), Ser1030(C) y Thr1027(C) las cuales probablemente interaccionan mediante fuerzas de van der Waals con la Agatisflavona (Figura 3E).

Numerosos estudios han sido reportados en los últimos meses, todos ellos enfocados en la comprensión de los mecanismos de infección del SARS-CoV-2 y en la búsqueda de moléculas o fármacos con posibles actividades antivirales, muchos de ellos teniendo como blanco de acción a la glicoproteína S del virus, el cual es fundamental para la virulencia y fácil transmisión (Hall y Ji, 2020; Li, 2016; Pandey *et al.*, 2020; Wrapp *et al.*, 2020).

Varios estudios presentan resultados con moléculas de origen natural (vegetal en su mayoría) y fármacos ya existentes en el mercado en los que se demuestra la inhibición de la función del ectodominio RBD de la proteína S, debido principalmente a los efectos neutralizantes mediante la interferencia del reconocimiento entre el dominio RBD y la proteína ACE2, y de esta manera la disminución en gran medida del éxito en la replicación del SARS-CoV-2 en las células hospederas (Baig *et al.*, 2020; Elfiky, 2020; Fakih, 2020; Kulkarni *et*

*al.*, 2020; Prasanth *et al.*, 2020; Sinha *et al.*, 2020; Subbaiyan *et al.*, 2020).

Además de neutralizar la acción de la proteína S del SARS-CoV-2 también desestabilizar o bloquear la trimerización de la espícula sería una estrategia en el que se ha visto buenos resultados con otras proteínas virales, como es el caso de la proteína Hemaglutinina (HA) H3N2 del virus de la Influenza (Kadam y Wilson, 2017).

Recientemente, Bongini *et al.* (2020) sugieren buscar compuestos que puedan bloquear el ensamblaje de la espícula del SARS-CoV-2 a su estructura cuaternaria como posible estrategia para luchar contra el virus, ya que el bloqueo de la trimerización de la proteína interfiere con el éxito del ciclo replicativo viral. Vankadari (2020) en un estudio computacional llevado a cabo con la molécula Arbidol, evidenció que esta podría presentar los mismos efectos en la proteína S del SARS-CoV-2 (RBD en configuración abierta) que con lo descrito en la proteína HA del virus de la Influenza. El autor menciona que el Arbidol podría actuar bloqueando a la trimerización de la glicoproteína viral, teniendo como blanco de interacción residuos presentes en los sitios de trimerización de las cadenas A, B y C de la proteína S.

A su vez en este estudio, se demostró que el biflavonoide Agatisflavona podría presentar mismos efectos que el Arbidol, ya que esta molécula también exhibe afinidades por los sitios de trimerización entre cadenas de la proteína S viral, lo cual podría mantenerse durante los cambios conformacionales que podrían sufrir la espícula viral (RBD abierto-cerrado). Los residuos activos implicados

en dichas interacciones fueron Gln1010, Arg1014, Gln954, Arg765, Glu773, Lys776 en la conformación abierta del ectodominio RBD, y los residuos Ala1020, Pro728, Glu1017, Lys947, Gln954, Leu1024, Asn1023 y Lys776 en la conformación cerrada del ectodominio RBD. Algunos de estos residuos observados fueron los mismos descritos en la interacción con la molécula de Arbidol (Lys776, Lys947, Asn1023 y Leu1024) (Vankadari, 2020).

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la Agatisflavona, presente en varias especies vegetales de la región, con importantes actividades antivirales y con capacidades de interacción no competitivas con proteínas virales (Abu-Reida *et al.*, 2014; de Freitas *et al.*, 2020; de Sousa *et al.*, 2015; Islam *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 1999), podría afectar a la trimerización de la glicoproteína S del SARS-CoV-2, probablemente bloqueando o impidiendo dicho evento, pudiendo ser considerada por ello como una fuente potencial de desarrollo terapéutico para la COVID-19. Sin embargo, se recomienda llevar a cabo ensayos *in vitro* haciendo un seguimiento de la trimerización y del ensamblaje de la estructura cuaternaria de la espícula viral a modo de confirmar estas observaciones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abu-Reida, I. M., Jamous, R. M., & Ali-Shtayeh, M. S. (2014). Phytochemistry, Pharmacological Properties and Industrial Applications of *Rhus coriaria* L. (Sumac). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 147(1573), 1-12. <https://doi.org/10.12816/0008245>.

- Baig, A. M., Khaleeq, A., & Syeda, H. (2020). Docking Prediction of Amantadine in the Receptor Binding Domain of Spike Protein of SARS-CoV-2. *ACS Pharmacology and Translational Science*, 3(6). <https://doi.org/10.1021/acspsci.0c00172>.
- Beniac, D. R., Andonov, A., Grudeski, E., & Booth, T. F. (2006). Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nature Structural & Molecular Biology*, 13(8), 751-752. <https://doi.org/10.1038/nsmb1123>.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
- Bongini, P., Trezza, A., Bianchini, M., Spiga, O., & Niccolai, N. (2020). A possible strategy to fight COVID-19: Interfering with spike glycoprotein trimerization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 528(1), 35-38. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.007>.
- Bosch, B. J., Zee, R. van der, Haan, C. A. M. de, & Rottier, P. J. M. (2003). The Coronavirus Spike Protein Is a Class I Virus Fusion Protein: Structural and Functional Characterization of the Fusion Core Complex. *Journal of Virology*, 77(16), 8801-8811. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.16.8801-8811.2003>.



- Dassault Systèmes BIOVIA. (2019). Discovery Studio Visualizer, version 20.1, San Diego: Dassault Systèmes.
- de Freitas, C. S., Rocha, M. E. N., Sacramento, C. Q., Marttorelli, A., Ferreira, A. C., Rocha, N., de Oliveira, A. C., de Oliveira Gomes, A. M., dos Santos, P. S., da Silva, E. O., da Costa, J. P., de Lima Moreira, D., Bozza, P. T., Silva, J. L., Barroso, S. P. C., & Souza, T. M. L. (2020). Agathisflavone, a Biflavonoid from *Anacardium occidentale* L., Inhibits Influenza Virus Neuraminidase. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 20(2), 111-120. <https://doi.org/10.2174/1568026620666191219150738>.
- de Sousa, L. R. F., Wu, H., Nebo, L., Fernandes, J. B., da Silva, M. F. das G. F., Kiefer, W., Kanitz, M., Bodem, J., Diederich, W. E., Schirmeister, T., & Vieira, P. C. (2015). Flavonoids as noncompetitive inhibitors of Dengue virus NS2B-NS3 protease: Inhibition kinetics and docking studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(3), 466-470. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.12.015>.
- Elfiky, A. A. (2020). Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1-10. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1761881>
- Fakih, T. (2020). Dermaseptin-Based Antiviral Peptides to Prevent COVID-19 through In Silico Molecular Docking Studies against SARS-CoV-2 Spike Protein. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 7(4). <https://doi.org/10.7454/psr.v7i4.1079>.
- Hall, D. C., & Ji, H.-F. (2020). A search for medications to treat COVID-19 via in silico molecular docking models of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein and 3CL protease. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 35, 101646. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101646>.
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>.
- Islam, M. T., Zihad, S. M. N. K., Rahman, M. S., Sifat, N., Khan, M. R., Uddin, S. J., & Rouf, R. (2019). Agathisflavone: Botanical sources, therapeutic promises, and molecular docking study. *IUBMB Life*, 71(9), 1192-1200. <https://doi.org/10.1002/iub.2053>.
- Kadam, R. U., & Wilson, I. A. (2017). Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(2), 206-214. <https://doi.org/10.1073/pnas.1617020114>.
- Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J.,

- & Bryant, S. H. (2016). PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1202-D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>.
- Kulkarni, S. A., Nagarajan, S. K., Ramesh, V., Palaniyandi, V., Selvam, S. P., & Madhavan, T. (2020). Computational evaluation of major components from plant essential oils as potent inhibitors of SARS-CoV-2 spike protein. *Journal of Molecular Structure*, 1221, 128823. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128823>.
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215-220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>.
- Li, F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual Review of Virology*, 3(1), 237-261. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>.
- Lin, Y.-M., Flavin, M. T., Schure, R., Chen, F.-C., Sidwell, R., Barnard, D. I., Huffmann, J. H., & Kern, E. R. (1999). Antiviral Activities of Biflavonoids. *Planta Medica*, 65(2), 120-125. <https://doi.org/10.1055/s-1999-13971>.
- Lokhande, K., Nawani, N., K. Venkateswara, S., & Pawar, S. (2020). Biflavonoids from *Rhus succedanea* as probable natural inhibitors against SARS-CoV-2: A molecular docking and molecular dynamics approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1-13. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1858165>.
- Pandey, P., Rane, J. S., Chatterjee, A., Kumar, A., Khan, R., Prakash, A., & Ray, S. (2020). Targeting SARS-CoV-2 spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: An in silico study for drug development. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1-11. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1796811>.
- Prasanth, D. S. N. B. K., Murahari, M., Chandramohan, V., Panda, S. P., Atmakuri, L. R., & Guntupalli, C. (2020). In silico identification of potential inhibitors from Cinnamon against main protease and spike glycoprotein of SARS CoV-2. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1-15. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779129>.
- Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 59-64.
- Sinha, S. K., Prasad, S. K., Islam, M. A., Gurav, S. S., Patil, R. B., Al-Faris, N. A., Aldayel, T. S., AlKehayez, N. M., Wabaidur, S. M., & Shakya, A. (2020). Identification of bioactive compounds from *Glycyrrhiza glabra* as possible inhibitor of SARS-CoV-2 spike glycoprotein and non-structural protein-15: A pharmacoinformatics study. *Journal of Biomolecu-*

- lar Structure and Dynamics, 0(0), 1-15. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779132>.
- Sternberg, A., & Naujokat, C. (2020). Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: Targets for vaccination. *Life Sciences*, 257, 118056. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118056>.
- Subbaiyan, A., Ravichandran, K., Singh, S. V., Sankar, M., Thomas, P., Dhama, K., Malik, Y. S., Singh, R. K., & Chaudhuri, P. (2020). In silico molecular docking analysis targeting SARS-CoV-2 Spike protein and selected herbal constituents. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14, 989-998. <https://doi.org/10.22207/JPAM.14.SPL1.37>.
- Toelzer, C., Gupta, K., Yadav, S. K. N., Borucu, U., Davidson, A. D., Williamson, M. K., Shoemark, D. K., Garzoni, F., Staufer, O., Milligan, R., Capin, J., Mulholland, A. J., Spatz, J., Fitzgerald, D., Berger, I., & Schaffitzel, C. (2020). Free fatty acid binding pocket in the locked structure of SARS-CoV-2 spike protein. *Science*, 370(6517), 725-730. <https://doi.org/10.1126/science.abd3255>.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
- Vankadari, N. (2020). Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking trimerization of the spike glycoprotein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(2), 105998. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105998>.
- Volkamer, A., Kuhn, D., Grombacher, T., Rippmann, F., & Rarey, M. (2012). Combining Global and Local Measures for Structure-Based Druggability Predictions. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(2), 360-372. <https://doi.org/10.1021/ci200454v>.
- Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C.-L., Abiona, O., Graham, B. S., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), 1444-1448. <https://doi.org/10.1126/science.abb2762>.