

Bioinformatics evaluation of the compounds effect of medicinal plants *Hyssopus officinalis* L., *Tragopogon graminifolius* and *Avicennia marina* L. on the inhibition of effective proteins against antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*

Marzieh Etehadpour 

*Corresponding author. Assistant Professor, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail: etehadpour@uk.ac.ir

Abstract
Objective

Acinetobacter baumannii is an important bacterium in causing nosocomial infections that has multidrug resistance. Several factors are involved in the resistance of these bacteria to drugs, the most important of which are the proteins OXA-24 beta-lactamase, OXA-23 beta-lactamase and OUTER MEMBRANE PROTEIN A (OMPA). In this regard, the aim of this study was to investigate the inhibitory effect of plant compounds in Salsify, Hyssop and Mangrove on these *Acinetobacter* proteins in silico.

Materials and methods

In this study, first the structure of plant compounds and proteins were obtained from PubChem and PDB databases, respectively. Then the physicochemical properties and mutagenic potential of plant compounds were predicted by Swiss ADME server and Toxtree-v2.6.13 software, respectively. ViewerLite, Chimera 1.14, Discovery Studio, AutoDockTools-1.5.6 and AutoDock Vina environments were used for molecular docking and interaction between plant compounds and proteins. The results were analyzed using three programs including AutoDockTools, Visualizer DS and Ligplot.

Results

According to mutagenicity potential and inhibition cytochromes results, compounds related to *H. officinalis* had higher mutagenic potential and cytotoxicity than the other two plants. In addition,

the results showed that *A. marina* compounds have higher digestive absorption compared to other compounds. A comparative study of the interactions showed that the compounds of *H. officinalis* and *A. marina* have stronger interactions with the studied proteins. In addition, it was found that the strongest interactions occurred between plant compounds and 1BXW protein. On the other hand, *T. graminifolius* compounds were found to have weaker interactions with the evaluated proteins.

Conclusions

Based on docking results, among all compounds evaluated in all three proteins 1BXW, 3G4P and 4 K0X, the best docking results were related to cis-pinocamphone and 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid, respectively, from Hyssop and mangrove. In fact, these compounds with the most negative binding energy levels (-9 Kcal / mol and -8.8, respectively) have a greater tendency to bind to the key amino acids of the active site of all three proteins. Therefore, these compounds can be considered as important candidates for laboratory and in vivo testing of *A. baumannii* activity.

Keywords: Molecular docking, Bioinformatics, Beta-lactamase, Medicinal plants

Paper Type: Research Paper.

Citation: Etehadpour M (2021) Bioinformatics evaluation of the compounds effect of medicinal plants *Hyssopus officinalis* L., *Tragopogon graminifolius* and *Avicennia marina* L. on the inhibition of effective proteins against antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Agricultural Biotechnology Journal* 13(2), 147-170.

Agricultural Biotechnology Journal 13(2), 147-170. DOI: 10.22103/jab.2021.17570.1315

Received: May 24, 2021.

Accepted: June 30, 2021.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

ارزیابی بیوانفورماتیکی تأثیر ترکیبات گیاهی موجود در گیاهان دارویی *Hyssopus officinalis*، *Tragopogon graminifolius* L. و *Avicennia marina* L. در مهار پروتئین‌های مؤثر در *Acinetobacter baumannii* بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مرضیه اتحادپور 

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه تولیدات گیاهی، مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

رایانامه: etehadpour@uk.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۳

چکیده

هدف: استینوباکتر بومانی باکتری مهمی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد که مقاومت چند دارویی دارد. چندین عامل در مقاوم شدن این باکتری‌ها در برابر داروها نقش دارند که مهم‌ترین آن‌ها پروتئین‌های OXA-24 beta-lactamase، OXA-23 beta-lactamase و OUTER MEMBRANE PROTEIN A (OMPA) هستند. در همین راستا هدف از این مطالعه بررسی اثر مهارکنندگی ترکیبات گیاهی موجود در گیاهان دارویی شنگ، زوفا و مانگرو بر این پروتئین‌های استینوباکتر در محیط *in silico* می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش نخست ساختار ترکیبات گیاهی و پروتئین‌های مورد بررسی به ترتیب از پایگاه‌های PubChem و PDB دریافت و سپس خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات گیاهی و همین‌طور پتانسیل جهش‌زایی آن‌ها به ترتیب توسط سرور Swiss ADME و نرم‌افزار Toxtree-v2.6.13 پیش‌بینی شدند. برای انجام داکینگ مولکولی و برهمکنش میان ترکیبات گیاهی و پروتئین‌های مورد نظر از محیط‌های ViewerLite، Chimera 1.14، Discovery Studio، AutoDockTools-1.5.6 و AutoDock Vina استفاده شد. در نهایت، نتایج با استفاده از سه برنامه AutoDockTools، Visualizer DS و Ligplot مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج: پتانسیل جهش‌زایی و مهار سیتوکروم‌ها نشان دادند ترکیبات مربوط به *H. officinalis* پتانسیل جهش‌زایی و سمیت سلولی بالاتری نسبت به دو گیاه دیگر داشتند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که ترکیبات گیاهی *A. marina* جذب گوارشی بالاتری در مقایسه با سایر ترکیبات دارند. بررسی مقایسه‌ای برهمکنش‌ها نشان داد که ترکیبات گیاه *H. officinalis* و *A.*

marina برهمکنش های قوی تری را با پروتئین های مورد بررسی انجام می دهند. علاوه بر این مشخص شد قوی ترین برهمکنش های رخ داده بین ترکیبات گیاهی و پروتئین 1BXW می باشد. از طرف دیگر مشخص شد ترکیبات گیاه *T. graminifolius* برهمکنش های ضعیف تری را با پروتئین های مورد ارزیابی ایجاد می کنند.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعات داکینگ، در میان تمام ترکیبات مورد ارزیابی در هر سه پروتئین 1BXW، 3G4P و 4K0X، بهترین نتایج داکینگ مربوط به ترکیبات *cis-pinocamphone* و 2,6- و 3,5-difluorophenyl ester (به difluorobenzoic acid به ترتیب از گیاهان زوفا و مانگرو است. در حقیقت این ترکیبات با منفی ترین سطح انرژی اتصال (به ترتیب -9 و $-8/8$ Kcal/mol) تمایل بیشتری برای اتصال به آمینو اسیدهای کلیدی جایگاه فعال هر سه پروتئین مورد مطالعه دارد. بنابراین ترکیبات مذکور می توانند به عنوان نامزدهای بسیار مناسبی برای بررسی آزمایشگاهی و *in vivo* فعالیت ضد *A. baumannii* محسوب شوند.

کلیدواژه ها: داکینگ ملکولی، بیوانفورماتیک، بتالاکتاماز، گیاهان دارویی.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: اتحادپور مرضیه (۱۴۰۰) ارزیابی بیوانفورماتیکی تأثیر ترکیبات گیاهی موجود در گیاهان دارویی *Hyssopus officinalis* و *Tragopogon graminifolius* L. در مهار پروتئین های مؤثر در بروز مقاومت آنتی بیوتیکی در *Acinetobacter baumannii*. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۳(۲)، ۱۷۰-۱۴۷.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

مصرف گسترده داروهای شیمیایی سبب ایجاد مقاومت باکتریایی و عوارض جانبی دیگر می گردد که از خود بیماری خطرناک تر است (Mimica-Dukić et al. 2010). مقاومت باکتریایی باعث بی تأثیر شدن داروهای موجود می گردد. در میان عوامل بیماری زه، مقاومت به آنتی بیوتیک باکتری *Acinetobacter* به علت شیوع آن از جایگاه ویژه ای برخوردار است. *Acinetobacter* توانایی زیادی برای توسعه سریع مقاومت آنتی بیوتیکی دارد که منجر به مقاومت چنددارویی شده است (Lin and Lan 2014). این باکتری در افراد با نقص ایمنی بستری در محیط های بیمارستانی به خصوص در بخش مراقبت های ویژه،

سوختگی و جراحی عفونت‌های شدید ایجاد می‌کند. مهم‌ترین سویه‌ی آن *Acinetobacter baumannii* می‌باشد که به عنوان یکی از شایع‌ترین عوامل بیماری‌زا در مراکز بهداشتی- درمانی از آن نام برده می‌شود (Spence et al. 2002). اسپینتوباکتر کوکوباسیل‌های گرم‌منفی، غیر تخمیری و هوازی هست.

عوامل مختلفی در مقاوم شدن این باکتری‌ها در برابر داروها و بیماری‌زایی آن نقش دارند. یکی از مهم‌ترین این عوامل وجود پروتئین OmpA در این باکتری‌ها می‌باشد. پروتئین غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی سبب مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تطابق با محیط و بیماری‌زایی در سلول میزبان می‌شود. انواعی از پروتئین‌های غشای خارجی از خانواده OmpA به نام OmpA_{Ab} در اسپینتوباکتر بومانی شناسایی شده است. همین‌طور در سویه‌های اسپینتوباکتر بومانی، آنزیم‌های هیدرولیز کننده کارباپنم‌ها شامل بتالاکتامازهای کلاس A (KPC)، بتالاکتامازهای کلاس B (متالو بتالاکتامازها) و بتالاکتامازهای کلاس D (اگزاسیلیناز کرپانماز) است (Peleg et al. 2008; Poirel et al. 2008). ژن‌های oxa type سبب تولید بتالاکتاماز کلاس D آمبلر می‌شوند (Poirel et al. 2005; Karmostaji et al. 2013). بتالاکتامازهای OXA، دارای فعالیت بسیار زیاد هیدرولیتیکی علیه اگزاسیلین و کلوگزاسیلین هستند و در این باکتری‌ها سهم بسیار قابل توجهی در مقاومت به کارباپنم‌ها به عهده دارند (Merkier and Centrón 2006; Turton et al. 2006).

همان‌طور که ذکر شد مسئله مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله معضلات جدی در دنیای پزشکی بوده، لذا در سال‌های اخیر پژوهش‌های فراوانی به منظور یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید، با منشأ طبیعی و با کمترین اثرات جانبی انجام شده است. گیاهان دارویی به دلیل مزیت‌های فراوانی مانند در دسترس بودن، تنوع بالا، منابع فراوان و ارزان بودن و اثرات جانبی کم نسبت به داروهای شیمیایی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Savoia 2012). در همین راستا (Marino et al. 2001) تأثیر سه جز اصلی اسانس زوفا را بر ۶ گونه باکتری گرم مثبت و ۹ گونه باکتری گرم منفی مطالعه کردند. ترکیبات گوناگونی به عنوان ترکیبات اصلی زوفا توسط محققین مختلف شناسایی شده است و در بیشتر تحقیقات سیس پینوکامفون، ترانس پینوکامفون، ایزو پینوکامفون و بتا پینن به‌عنوان ترکیبات غالب گزارش شده است (Ghasemi et al. 2019; Figueiredo et al. 2008; Fathiazad and Hamedeyazdan 2011; Farhodi 2013; Zawislak 2013; Pradhan et al. 2017; Srivastava et al. 2018) و خاصیت ضد قارچی و ضد باکتری به وجود پینوکامفون، ایزوپینوکامفن و بتا پینن نسبت داده می‌شود (Vallejo et al. 1995; Said-Al Ahl et al. 2015; Srivastava et al. 2018).

گزارش‌ها از خاصیت ضد میکروبی گیاهان مانگرو از قسمت‌های مختلف دنیا در حال افزایش می‌باشد. به‌ویژه در دهه اخیر گیاهان مانگرو برای شناسایی ترکیبات فعال مورد غربالگری قرار گرفته‌اند و مشخص شده است که این گیاهان یک منبع زیستی بالقوه از ترکیبات داروهای جدید می‌باشند. تاکنون بیش از ۲۰۰ متابولیت فعال از گیاهان مانگرو مانند اویسنیا مارینا در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیری جدا شده است (Saad et al. 2012). گیاهان مانگرو در طب سنتی برای درمان بیماری‌های زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرند همچنین فعالیت ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدقارچی گیاهان مانگرو تأیید شده است (Ravikumar et al. 2010).

همین طور در طب نوین اثرات ضدباکتریایی (AMIR et al. 2000)، ضداکسیدانی (Heidari et al. 2006)، ضد میکروبی (Ranjbar et al. 2006) و نیز اثر حفاظتی در برابر زخم معده (Zidorn et al. 2010) در مورد گیاه دارویی سنگ به اثبات رسیده است.

تجزیه و تحلیل اثربخشی طیف وسیعی از ترکیبات گیاهی جهت دستیابی به آنتی بیوتیک‌های ایمن و جدید به طریق آزمایشگاهی زمان‌بر و نیازمند هزینه زیادی است. بنابراین طی سال‌های اخیر پژوهش‌های مبتنی بر روش‌های بیوانفورماتیکی به علت صرفه‌جویی در زمان و هزینه به عنوان روش‌هایی مکمل در طراحی داروهای جدید از جمله ترکیبات آنتی‌بیوتیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Blundell et al. 2006). در این راستا، غربالگری مجازی، روشی محاسباتی و تأیید شده برای تشخیص بهترین و پایدارترین ترکیب از کتابخانه‌های شیمیایی عظیم است. (غربالگری مجازی از لحاظ اقتصادی، روشی کاملاً مقرون‌به‌صرفه جهت تحقق و دستیابی به بهترین و پایدارترین ترکیب مهارکننده است) (Molecular Property Prediction 2013). روش‌های مذکور امکان پیش‌بینی برهمکنش‌ها، ناحیه برهمکنش، گروه‌های عاملی درگیر در میانکنش دارو-هدف، سمیت احتمالی و نیز خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات مورد آزمون را در مدت زمان کوتاه و با دقت بالایی فراهم می‌کند (Blundell et al. 2006; Nosrati et al. 2018). ضرورت مطالعه حاضر بر روی باکتری *Acinetobacter baumannii* L. به دلیل بیماری‌زایی خطرناک و گسترده این باکتری در انسان و همچنین مقاوم شدن آن به درمان‌های آنتی‌بیوتیکی می‌باشد. علاوه بر این، سه گیاه دارویی *Hyssopus officinalis* L.، *Avicennia marina* L. و *Tragopogon graminifolius* گیاهان بومی ایران بوده و تأثیرات ضدباکتریایی آن‌ها در پژوهش‌های آزمایشگاهی مورد تأیید واقع شده است (Saeidi et al. 2014; Jahani et al. 2019; Mashhady et al. 2016; Hassanshahian et al. 2019; Mahmudpour et al. 2019). ترکیبات اصلی گیاهی درگیر در فرآیند مهار پروتئین‌های مسئول در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی از بین سایر ترکیبات گیاهان مورد مطالعه، می‌توان از آن ترکیبات به صورت خالص شده در پژوهش‌های تجربی بهره برد. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی بیوانفورماتیکی تأثیر ترکیبات موجود در گیاهان دارویی *Hyssopus officinalis* L.، *Avicennia marina* L. و *Tragopogon graminifolius*، در مهار پروتئین‌های مؤثر در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در استینوباکتر بومانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری داده‌های اولیه: مطالعه حاضر به شیوه توصیفی - تحلیلی انجام گرفت. در این پژوهش اثر مهار ترکیبات

فیتوشیمیایی سه گونه گیاهی *Tragopogon graminifolius* و *Avicennia marina* L.، *Hyssopus officinalis* L. بر سه پروتئین مهم و مؤثر در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *Acinetobacter baumannii* شامل: پروتئین‌های OXA-24، OXA-23 beta-lactamase، و OUTER MEMBRANE PROTEIN A (OMPA) مورد

مطالعه قرار گرفت. ترکیبات این سه گیاه که اثربخشی ترکیبات دو تای آنها بر این باکتری طی بررسی‌های آزمایشگاهی تأیید شده بود به‌عنوان لیگاند انتخاب شدند (Mahmudpour et al 2019; Hassanshahian et al 2019) (جدول ۱). در مرحله بعد این ترکیبات همراه با کد دسترسی و فرمول مولکولی آن از پایگاه داده‌های ترکیبات شیمیایی به آدرس www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov استخراج شدند و سپس ساختار سه بعدی لیگاندهای مورد نظر از همین پایگاه در فرمت sdf دریافت شد. همچنین ساختار سه بعدی سه پروتئین مورد مطالعه به ترتیب با شماره‌های دسترسی 4K0X، 3G4P و 1BXW نیز از پایگاه داده‌های پروتئین به آدرس www.rcsb.org به دست آمد (شکل ۱).

پیش‌بینی سمیت و خصوصیات فیزیکو-شیمیایی لیگاندهای مورد بررسی: از شاخص‌های مهم جهت

ارزیابی یک مولکول به‌عنوان نامزد دارویی، داشتن خصوصیات فیزیکو-شیمیایی مطلوب و عدم سمیت در کنار اثربخشی دارویی آن است. لذا در این پژوهش قبل از ارزیابی برهمکنش‌های لیگاند- پروتئین، ترکیبات گیاهی مورد نظر از لحاظ خصوصیات فیزیکو-شیمیایی و همچنین عدم سمیت مورد بررسی قرار گرفتند (Nosrati et al. 2018). این فاکتورهای تأثیرگذار در خطر سمیت یک ترکیب دارویی شامل حلالیت در آب (logS)، میزان قطبیدگی (TPSA) و قابلیت نفوذ (logP) بودند که با استفاده از سرور آنلاین SwissADME به آدرس www.swissadme.ch تعیین شدند. این سرور با گرفتن اطلاعات مولکول شیمیایی در قالب فایل mol یا SMILE امکان پیش‌بینی خصوصیات فیزیکو-شیمیایی و سمیت سلولی را فراهم می‌آورد. علاوه بر این، پتانسیل جهش‌زایی ترکیبات گیاهی و همچنین قابلیت مهار ۴ سیتوکروم C9، 4502A4، 4502C9، CYP3A4، 4501A2، CytochromeP، CYP2C9، CytochromeP، CYP2C19، نیز CytochromeP، 4502C19، CYP1A2) به‌عنوان قابلیت سمیت ژنتیکی و سلولی با استفاده از نرم‌افزارهای (Guedes Toxtree-v2.6.13) (Daina et al. 2017) SwissADME و et al. (2014) به ترتیب مورد بررسی قرار گرفتند.

آماده کردن لیگاندها و پروتئین برای داکینگ: با استفاده از نرم‌افزار DS ۵,۳ (Hanwell et al 2012)

Visualizer لیگاند و کوفاکتورهای اضافی و مولکول‌های آب موجود در ساختار کریستالی پروتئین حذف شدند. همین عمل برای لیگاندهای مورد بررسی نیز انجام شد. در مرحله بعد جهت بررسی برهمکنش لیگاند و گیرنده در پایدارترین حالت از لحاظ انرژی و ساختار، ساختار سه بعدی تمامی لیگاندها و مولکول گیرنده از لحاظ انرژی و ساختار با استفاده از قسمت بهینه‌سازی نرم افزار Chimera5 (Pettersen et al. 2004) بهینه‌سازی شدند. در ادامه لیگاندهای بهینه شده به‌عنوان ورودی نرم‌افزار AutoDockTools (Morris et al (2009) استفاده و سپس با استفاده از Marsili-Gasteiger بار جزئی برای مولکول‌های مهارکننده محاسبه شد. هیدروژن‌های غیر یونیزه نیز ادغام گردید و بعد از مشخص کردن مرکز ثقل مولکول تمامی باندهای قابل چرخش تعیین گردید.

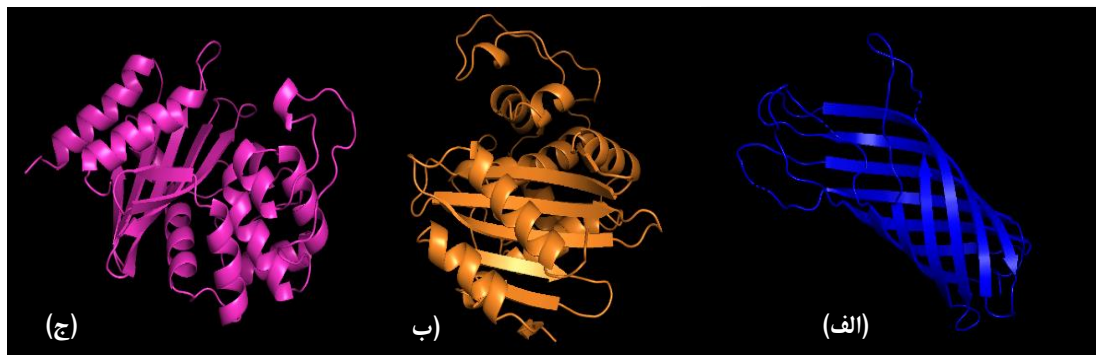
جدول ۱. ترکیبات گیاهی مورد بررسی جهت غربالگری مهارکننده‌های پروتئین‌های مؤثر در بروز مقاومت

آنتی‌بیوتیکی در باکتری *A. baumannii*

Table 1. Investigated plant compounds for screening inhibitors of effective proteins against antibiotic resistance in *A. baumannii*

<i>Avicennia marina</i>	<i>Hyssopus officinalis</i>	<i>Tragopogon graminifolius</i>	گونه گیاهی نام ترکیب compound
methyl palmitate, methyl p-vinylbenzoate, methyl ester(9Z,15Z)-9,15-octadecadienoic acid, 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid, methyl ester octadecanoic acid, methyl oleate, n-caproaldehyde, methyl ester 9-oxononanoic acid, hexahydrofarnesyl acetone, phytol, diethyl phthalate, eicosane	β -pinene, limonene, β -phellandrene, β -ocimene, 3(10)-carene-4-ol, acetoacetic acid ester, (E)-2,6-dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, 1,5,5-trimethyl-6-methylene-cyclohexene, α -gurjinene, linalool, caryophyllene, trans-pinocamphone, cis-pinocamphone, α -humulene, α -terpineol, germacrene D, bicyclgermacrene, nerol, myrtenol, geraniol, citral, guaia-1(10),11-diene, methyleugenol, α -elemol, caryophyllene oxide, durenol, spathulenol, (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene, γ -eudesmol, α -cadinol, α -eudesmol, β -eudesmol, α -gurjenene	2-Heptanone, 1-Octen3-ol, Furan,2-Pentyl, Octanal, (E-E) 2,4-Heptadienal, β -Cymene, 1,8-Cineole, β -Ocimene, 2-Nonanone, Nonanal, (E) 2-Nonenal, 1-Nonanol, 3,6-Dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran, Decanal, 1-Cyclohexene-1-Carboxaldehyde,2,6,6-trimethyl, Geraniol, 2,4-Decadienal, 2-Undecenal, α -Copaene, β -Damascenone, β -Elemene, Tetradecane, Methyl eugenol, Dodecanal, β -Caryophyllene, (E) Geranylacetone, α -Humulene, (E,E)- β -Farnesene, β -Ionone, 1-Pentadecene, n-Pentadecane, Tridecanal, Nerolidol isomer, Caryophyllene oxide, Hexadecane, Tetradecanal, 2-Pentadecanon, E2-Tetradecen-1-ol, Tetradecanoic acid, Octadecane, Hexadecanal, Hexahydrofarnesylacetone, n-Hexadecanol, Nonadecane, Methyl hexadecanoate, n-Hexadecanoic acid, Eicosane, 9-Octadecen-1-ol, Heneicosane, Phytol, Linoleic acid, Oleic acid, n-Octadecanoic acid, Docosane, Tricosane, Tetracosane, Pentacosane, Docosanoic acid methyl ester	

همین‌طور پروتئین‌های مورد بررسی به عنوان ورودی نرم افزار AutoDockTools استفاده شدند تا بعد از اضافه شدن اتم‌های هیدروژن به پروتئین، بار کلی آن با استفاده از Charge Kollman تعیین گردد، سپس هیدروژن‌های غیر یونیزه در اتم کربن مجاور ادغام شوند. بعد از حذف قسمت‌های غیرضروری در عملیات داکینگ، پروتئین به‌عنوان ورودی نرم‌افزار (Trott and Olson 2010) Auto Dock Vina استفاده شد.



شکل ۱. پروتئین‌های مؤثر در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *A. baumannii* (الف: 1BXW، ب: 4K0X، ج: 3G4P)

Figure 1. Effective proteins against antibiotic resistance in *A. baumannii*

انجام داکینگ مولکولی: فرآیند داکینگ لیگاندها به جایگاه اتصال پروتئین‌های مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار AutoDock-vina-1-1-2-win32.msi انجام گرفت. تمامی محاسبات داکینگ با استفاده از الگوریتم بهینه‌کننده جستجوی محلی تکرار شونده با در نظر گرفتن پروتئین به صورت انعطاف‌ناپذیر و لیگاند به صورت انعطاف‌پذیر انجام شد. با استفاده از سایت castp به آدرس <http://sts.bioe.uic.edu/castp/index.html> و همین‌طور نرم‌افزار PyMOL (DeLano 2002) مرکز جایگاه اتصال تعیین گردید. سپس جعبه گرید با ابعاد $40 \times 40 \times 40$ نقطه ساخته و در مرکزیت جایگاه اتصال پروتئین قرار داده شد. در نرم‌افزار Auto Dock Vina فضای جستجو جعبه گرید، به صورت پیش‌فرض ۱ انگستر در نظر گرفته می‌شود. پس از انجام داکینگ بهترین کانفورماسیون با پایین‌ترین میزان انرژی اتصال، به عنوان نتیجه انتخاب شد. در نهایت میان‌کنش‌های هیدروژنی و هیدروفوبی کمپلکس پروتئین-لیگاند به وسیله نرم‌افزارهای AutoDockTools، DS Visualizer و LigPlot (Laskowski and Swindells 2011) آنالیز گردید.

نتایج و بحث

امروزه بهره‌گیری از ابزارهای سریع و محاسباتی مانند داکینگ مولکولی جهت پیش‌بینی طراحی داروها ضروری به نظر می‌رسد و همچنین این روش بر اساس برهمکنش اتم‌ها با یکدیگر بوده و در آن لیگاند یا ترکیب شیمیایی موردنظر، جهت یافتن جایگاه اتصال مطلوب، به طور تصادفی و یا با الگوریتم اختصاصی در سطح ماکرومولکول ویژه‌ای جایجا می‌شود، لذا در این تحقیق، قابلیت

ترکیبات گیاهی مورد نظر در ایجاد برهمکنش و مهار سه پروتئین OXA-23 beta-lactamase، OXA-24 beta-lactamase و OMPA به روش داکینگ مولکولی و با استفاده از نرم افزار Auto Dock Vina ارزیابی شد.

پیش بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پتانسیل سمیت ترکیبات مورد بررسی: نتایج حاصل از پیش بینی

خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات گیاهی و همچنین پتانسیل سمیت آن‌ها، که از سرور آنلاین SwissADME و نرم افزار Toxtree-v2.6.13 استخراج و در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به نتایج مربوط به ستون پتانسیل جهش‌زایی و جمع‌بندی نتایج مرتبط با مهار سیتوکروم‌ها، ترکیبات مربوط به *H. officinalis* در این پژوهش پتانسیل جهش‌زایی و سمیت سلولی بالاتری نسبت به دو گیاه دیگر داشتند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که ترکیبات گیاهی *A. marina* جذب گوارشی بالاتری در مقایسه با سایر ترکیبات دارند. چنانچه ترکیبات دارویی خوراکی جذب گوارشی بالایی را داشته باشند، می‌تواند به راحتی توسط سیستم گوارشی جذب شده و بنابراین تأثیرات قابل توجه و سریع‌تری را از خود نشان دهند. بررسی میزان حلالیت ترکیبات مورد ارزیابی بر اساس logS نیز نشان داد که ترکیب Pentacosane حاصل از گیاه *T. graminifolius* کم‌ترین و n-caproaldehyde موجود در گیاه *A. marina* بیش‌ترین حلالیت را دارند. علاوه بر این مشخص شد که بین ترکیبات مورد ارزیابی، Pentacosane (E- و 2,4-Heptadienal (به ترتیب، براساس logP، بالاترین و پایین‌ترین میزان قابلیت نفوذ را داشتند (جدول ۲).

داکینگ مولکولی: تمام محاسبات داکینگ توسط برنامه Vina صورت گرفت که طی آن ۱۰۰ ترکیب گیاهی به درون ساختار

سه پروتئین مؤثر در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری *A. baumannii* داک شدند. انرژی تمایل ترکیبات به پروتئین هدف به صورت mol/kcal محاسبه شد، هرچه مقدار انرژی کمتر باشد تمایل لیگاند به جایگاه اتصال بیشتر می‌باشد و برعکس. نتایج حاصل از داکینگ مولکولی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که اکثر ترکیبات مورد بررسی برهمکنش‌های مناسبی را با سه پروتئین مذکور نشان می‌دهند. بررسی مقایسه‌ای برهمکنش‌ها نشان داد که ترکیبات گیاه *H. officinalis* و *A. marina* برهمکنش‌های قوی‌تری را با پروتئین‌های مورد بررسی انجام می‌دهند. علاوه بر این مشخص شد قوی‌ترین برهمکنش‌های رخ داده بین ترکیبات گیاهی و پروتئین 1BXW می‌باشد. از طرف دیگر مشخص شد ترکیبات گیاه *T. graminifolius* برهمکنش‌های ضعیف‌تری را با پروتئین‌های مورد ارزیابی ایجاد می‌کنند. ترکیبات Octanal، Eicosane، Tridecanal، Dodecanal و 2-Heptanone از گیاه شنگ ضعیف‌ترین برهمکنش‌ها را با پروتئین‌های مورد بررسی نشان دادند. در مقابل مشخص شد که قوی‌ترین برهمکنش‌ها در هر سه پروتئین 1BXW، 3G4P و 4K0X مربوط به ترکیبات cis-pinocamphone و 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid به ترتیب از گیاهان زوفا و مانگرو می‌باشد.

جدول ۲. نتایج ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پتانسیل سمیت ترکیبات گیاهان مورد مطالعه

Table 2. Results of physicochemical properties and toxicity potential of the studied plant compounds

logP	TPSA	logS	جذب گوارشی Gastrointestinal absorption	مهار سیتو کروم 1A2 inhibition of cytochrome 1A2	مهار سیتو کروم 2C19 inhibition of cytochrome 2C19	مهار سیتو کروم 2C9 inhibition of cytochrome 2C9	مهار سیتو کروم 3A4 inhibition of cytochrome 3A4	پتانسیل جهش زایی mutageni c potential	نام ترکیبات موجود در سه گیاه دارویی plant compounds
1.98	17.07	-1.53	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	متوسط moderat e	2-Heptanone
2.55	20.23	-1.91	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	متوسط moderat e	1-Octen3-ol
3.66	13.14	-3.11	زیاد high	بلی yes	خیر no	خیر no	خیر no	زیاد high	Furan,2-Pentyl
2.72	17.07	-1.95	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	Octanal
1.62	17.07	-1.35	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	(E-E) 2,4-Heptadienal
2.74	9.23	-2.52	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	زیاد high	1,8-Cineole
4.26	0.001	-3.17	کم low	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	β-Ocimene
3.14	17.07	-2.30	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	متوسط moderat e	2-Nonanone
3.26	17.07	-2.31	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	Nonanal
3.15	17.07	-2.30	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	(E) 2-Nonenal
3.77	20.23	-2.65	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	1-Nonanol
1.90	9.23	-1.98	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	زیاد high	3,6-Dimethyl- 2,3,3a,4,5,7a- hexahydrobenzofuran
3.80	17.07	-2.67	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	Decanal
2.43	17.07	-2.25	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	1-Cyclohexene-1- Carboxaldehyde,2,6,6- trimethyl
3.56	20.23	-2.78	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	Geraniol
3.25	17.07	-2.44	زیاد high	خیر no	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	2,4-Decadienal
4.23	17.07	-3.02	زیاد high	بلی yes	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	2-Undecenal
4.47	0.001	-3.86	کم low	بلی yes	بلی yes	بلی yes	خیر no	کم low	α-Copaene
3.18	17.07	-2.89	زیاد high	بلی yes	خیر no	خیر no	خیر no	کم low	β-Damascenone
6.11	0.001	-4.76	کم low	خیر no	بلی yes	بلی yes	خیر no	کم low	β-Elemene

7.20	0.001	-4.88	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Tetradecane
	<								
2.52	18.46	-2.61	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	high زیاد	Methyl eugenol
4.89	17.07	-3.40	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Dodecanal
4.38	0.001	-3.87	low کم	no خیر	yes بلی	yes بلی	no خیر	low کم	β -Caryophyllene
	<								
3.70	17.07	-2.98	high زیاد	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	(E) Geranylacetone
4.55	0.001	-3.97	low کم	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	low کم	α -Humulene
	<								
6.12	0.001	-4.57	low کم	yes بلی	no خیر	yes بلی	no خیر	low کم	(E,E)- β -Farnesene
	<								
2.91	17.07	-2.73	high زیاد	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	β -Ionone
8.41	0.001	-5.65	low کم	yes بلی	no خیر	yes بلی	no خیر	low کم	1-Pentadecene
	<								
7.74	0.001	-5.24	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	n- Pentadecane
	<								
5.43	17.07	-3.76	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Tridecanal
4.83	20.23	-3.80	high زیاد	yes بلی	no خیر	yes بلی	no خیر	high زیاد	Nerolidol isomer
3.56	12.53	-3.45	high زیاد	no خیر	yes بلی	yes بلی	no خیر	high زیاد	Caryophyllene oxide
8.28	0.001	-5.60	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Hexadecane
	<								
5.97	17.07	-4.13	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Tetradecanal
6.95	17.07	-5.09	high زیاد	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	متوسط moderate	2-Pentadecanon
								e	
5.72	20.23	-4.03	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	E2-Tetradecen-1-ol
6.11	37.30	-4.31	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Tetradecanoic acid
9.37	0.001	-6.33	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Octadecane
	<								
7.05	17.07	-4.85	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Hexadecanal
6.95	17.07	-5.09	high زیاد	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	متوسط moderate	Hexahydrofarnesylacetone
								e	
7.11	20.23	-4.90	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	n-Hexadecanol
9.91	0.001	-6.69	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Nonadecane
	<								
7.38	26.30	-5.18	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Methyl hexadecanoate
7.17	37.30	-5.02	high زیاد	yes بلی	no خیر	yes بلی	no خیر	low کم	n-Hexadecanoic acid
10.4	0.001	-7.05	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Eicosane
	<								
7.45	20.23	-5.21	high زیاد	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	9-Octadecen-1-ol
10.9	0.001	-7.41	low کم	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Heneicosane
	<								

8.19	20.23	-5.98	کم	no	خير	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	Phytol	
6.98	37.30	-5.05	high	زیاد	yes	بلى	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	Linoleic acid
7.64	37.30	-5.41	high	زیاد	yes	بلى	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	Oleic acid
8.23	37.30	-5.73	high	زیاد	yes	بلى	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	n-Octadecanoic acid
11.5	0.001	-7.78	low	کم	yes	بلى	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Docosane
3	<														
12.0	0.001	-8.14	low	کم	yes	بلى	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Tricosane
7	<														
12.6	0.001	-8.50	low	کم	yes	بلى	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Tetracosane
2	<														
13.1	0.001	-8.87	low	کم	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Pentacosane
6	<														
10.2	26.30	-7.08	low	کم	yes	بلى	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Docosanoic acid methyl ester
0															
4.16	0.001	-3.31	low	کم	no	خير	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	β -pinene
<															
4.16	0.001	-3.31	low	کم	no	خير	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	Limonene
<															
4.57	0.001	-3.50	low	کم	no	خير	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	β -phellandrene
<															
4.26	0.001	-3.17	low	کم	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	β -ocimene
<															
2.14	43.37	-2.39	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	3(10)-caren-4-ol, acetoacetic acid ester
4.38	0.001	-3.23	low	کم	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	(E)-2,6-dimethyl-1,3,5,7-octatetraene
<															
3.11	0.001	-2.64	low	کم	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	1,5,5-trimethyl-6-methylene-cyclohexene
<															
4.10	0.001	-3.69	low	کم	no	خير	yes	بلى	yes	بلى	no	خير	low	کم	α -gurjinene
<															
2.97	20.23	-2.40	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	high	زیاد	Linalool
4.38	0.001	-3.87	low	کم	no	خير	yes	بلى	yes	بلى	no	خير	low	کم	Caryophyllene
<															
2.27	17.07	-2.21	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	high	زیاد	trans-pinocamphone
2.27	17.07	-2.21	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	high	زیاد	cis-pinocamphone
4.55	0.001	-3.97	low	کم	no	خير	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	α -humulene
<															
3.39	20.23	-2.87	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	high	زیاد	α -terpineol
4.74	0.001	-4.03	low	کم	no	خير	no	خير	yes	بلى	no	خير	low	کم	germacrene D
<															
4.14	0.001	-3.72	low	کم	no	خير	yes	بلى	yes	بلى	no	خير	low	کم	Bicyclogermacrene
<															
3.56	20.23	-2.78	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Nerol
3.22	20.23	-2.75	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Myrtenol
3.56	20.23	-2.78	high	زیاد	no	خير	no	خير	no	خير	no	خير	low	کم	Geraniol

3.03	17.07	-2.43	زیاد high	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Citral
4.61	0.001	-3.95	کم low	no خیر	yes بلی	yes بلی	no خیر	low کم	guaia-1(10),11-diene
2.52	18.46	-2.61	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	high زیاد	Methyleugenol
4.41	20.23	-3.80	زیاد high	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	high زیاد	α -elemol
3.56	12.53	-3.45	زیاد high	no خیر	yes بلی	yes بلی	no خیر	high زیاد	caryophyllene oxide
3.02	20.23	-3.08	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Durenol
3.11	20.23	-3.17	زیاد high	no خیر	yes بلی	no خیر	no خیر	high زیاد	Spathulenol
4.70	0.001	-4.00	کم low	no خیر	yes بلی	yes بلی	no خیر	low کم	(+)-epi bicyclosquiphellandrene
3.39	20.23	-3.29	زیاد high	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	high زیاد	γ -eudesmol
3.34	20.23	-3.26	زیاد high	no خیر	yes بلی	no خیر	no خیر	high زیاد	α -cadinol
3.50	20.23	-3.36	زیاد high	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	high زیاد	α -eudesmol
3.74	20.23	-3.51	زیاد high	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	high زیاد	β -eudesmol
3.26	0.001	-3.69	کم low	no خیر	yes بلی	yes بلی	no خیر	low کم	α -gurjenene
7.38	26.30	-5.18	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	methyl palmitate
3.11	26.30	-2.98	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	methyl p-vinylbenzoate
6.73	26.30	-4.92	زیاد high	yes بلی	no خیر	yes بلی	no خیر	low کم	methyl ester(9Z,15Z)-9,15-octadecadienoic acid
3.73	26.30	-4.13	زیاد high	no خیر	yes بلی	no خیر	no خیر	high زیاد	3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid
8.35	26.30	-5.83	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	methyl ester octadecanoic acid
7.45	26.30	-5.32	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	methyl oleate
1.78	17.07	-1.32	زیاد high	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	n-caproaldehyde
2.04	43.37	-1.69	زیاد high	no خیر	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	methyl ester 9-oxononanoic acid
6.95	17.07	-5.09	زیاد high	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	متوسط moderate	hexahydrofarnesyl acetone
8.19	20.23	-5.98	کم low	no خیر	no خیر	yes بلی	no خیر	low کم	Phytol
2.42	52.60	-2.62	زیاد high	yes بلی	no خیر	no خیر	yes بلی	low کم	diethyl phthalate
10.4	0.001	-7.05	کم low	yes بلی	no خیر	no خیر	no خیر	low کم	Eicosane

علاوه بر این بررسی اسید آمینه‌های درگیر در برهمکنش‌ها نیز نشان داد که در برهمکنش ترکیبات گیاهی با پروتئین 1BXW، اسید آمینه‌هایی نظیر His19، Tyr72، Trp102، Asn146 و Asp158 نقش کلیدی را ایفاء می‌کنند. آمینو اسیدهای کلیدی و

نواحی مهم درگیر در برهمکنش پروتئین‌های مورد بررسی با ترکیبات گیاهی مورد مطالعه در جدول ۳ خلاصه شده است. به‌طور کلی بیش‌ترین و کم‌ترین اسید آمینه‌های درگیر در برهمکنش به ترتیب مربوط به 4K0X و 3G4P بودند.

جدول ۳. نواحی و اسید آمینه‌های کلیدی درگیر در برهمکنش ترکیبات گیاهی با ۳ پروتئین مورد بررسی

باکتری *A. baumannii*

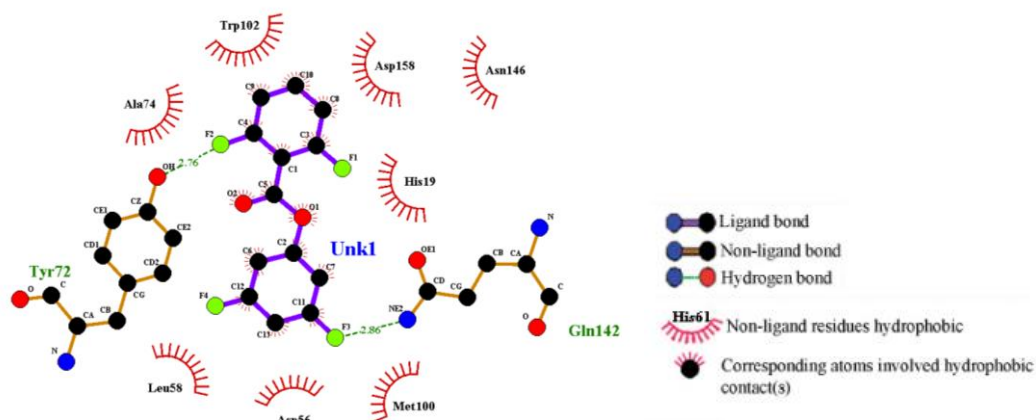
Table 3. Areas and key amino acids involved in the interaction of plant compounds with the 3 proteins of *A. baumannii*

پروتئین	موقعیت اسیدآمینه‌هایی با بیشترین میزان	اسیدآمینه‌های دارای نقش کلیدی در برهمکنش
1BXW	19, 56-58, 72, 74-76, 100, 102, 104, 116-142-158	His19, Tyr72, Ala74, Trp102, Asn146, Asp158
3G4P	81, 112-115, 127, 128, 130, 219-223, 258, 261	Ser81, Tyr112, Trp115, Ser128, Val130, Trp221, Met223
4K0X	79, 110, 113, 126, 128, 166, 217-222, 259	Ser79, Trp113, Ser126, Val128, Leu166, Trp219,

*اسیدآمینه‌های ذکر شده در جدول ۳، شامل: آلانین (Ala)، تیروزین (Tyr)، هیستیدین (His)، آسپاراژین (Asn)، تریپتوفان (Trp)، اسید آسپارتیک (Asp)، والین (Val)، متیونین (Met)، سرین (Ser)، تیروزین (Tyr) و لوسین (Leu) می‌باشند.

بحث

در سال‌های اخیر شیوع عفونت‌های ناشی از استینوباکتر بومانی در بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها، از جمله ICU، سوختگی و بخش ریوی به وفور گزارش شده است. این باکتری از لحاظ ایجاد مرگ و میر و ناراحتی‌های طولانی مدت به عنوان یکی از مسائل عمده بهداشتی در سراسر جهان به ویژه کشورهای در حال توسعه شناخته می‌شود. Bayram et al. 2013; Smani et al. (2014). وجود قابلیت‌های ژنتیکی منحصر به فرد در این ارگانیسم که منجر به تولید فاکتورهای دخیل در بروز مقاومت نسبت به محیط‌های خشن شده است، ایجاد اپیدمی‌های گسترده و شیوع آن در سراسر جهان (به دلیل قابلیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی چند دارویی) (Lin and Lan 2014) سبب شده است که این ارگانیسم در طی دو دهه اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار بگیرد. یکی از راهکارهای موثر مقابله با این ارگانیسم استفاده از گیاهان دارویی است. این گیاهان با داشتن متابولیت‌های ثانویه فراوان مواد مؤثر اولیه بسیاری از داروها را دارند. در نتیجه این گیاهان می‌توانند به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع دارویی با اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جدید شمرده شوند (Savithamma et al. 2011; Chakraborty et al. 2014). این گیاهان از طریق تحریک سیستم ایمنی، فعالیت ضدالتهابی و ضداکسیدانی، افزایش هضم و جذب مواد غذایی و فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدانگلی در درمان بسیاری از بیماری‌ها به کار می‌روند (Weinstein 2001; Saeidi et al. 2014).



شکل ۲. اسیدآمینوهای درگیر در تشکیل پیوند هیدروفوبی با ترکیب 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid توسط نرم افزار Lig plot. همان طور که در شکل مشخص است این ترکیب با اسیدآمینوهای Tyr72 و Gln 142 پیوند هیدروژنی (خطچین سبز) و با آمینواسیدهای Asp158، Asn146، Ala74، Leu58، Met100، His19، Asp56 و Trp102 در تشکیل پیوند هیدروفوبی شرکت می کند. برای نمایش دادن لیگاندها از مدل گوی و میله استفاده شد.

Figure 2. Amino acids involved in hydrophobic bond with the 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid compound by Lig plot software. As shown in the figure, this compound participates in the formation of hydrogen bonds with the amino acids Gln 142 and Tyr72 (green dashed line) and hydrophobic bonds with the amino acids Asn146, Asp158, Trp102, Ala74, Leu58, Met100, His19 and Asp56. The ball and bar model was used to represent the ligands.

در پژوهش حاضر تأثیر ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در سه گونه گیاهی *H. officinalis*، *A. marina* و *T. graminifolius* بر روی باکتری *A. baumannii* ارزیابی شد و نتایج مطالعه ما نشان داد که ترکیبات گیاه *H. officinalis* و *A. marina* برهمکنش های قوی تری را با پروتئین های مورد بررسی انجام می دهند. از طرف دیگر مشخص شد ترکیبات گیاه *T. graminifolius* برهمکنش های ضعیف تری را با پروتئین های مورد ارزیابی ایجاد می کنند که در تطابق با این مطالعه در پژوهشی که توسط Mahmudpour et al. (2019) انجام گرفت اثرات ضد باکتریایی عصاره خام برگ گیاه حرا بر روی سویه های استاندارد و بالینی *Acinetobacter baumannii* در شرایط In-vitro بررسی شد. نتایج آن ها نشان داد که عصاره برگ گیاه حرا دارای اثر ضد باکتریایی قابل ملاحظه ای بر روی سویه مرجع اسپیتوباکتر بومانی و همچنین سویه های بالینی مقاوم به کاربامپنم بود.

(Mahmudpour et al. 2019). تاکنون تنها برخی از ترکیبات گیاه حرا که ویژگی ضد میکروبی دارند مشخص شده است از جمله این ترکیبات می‌توان به زانتون‌ها اشاره نمود (Bandaranayake 2002). زانتون‌ها از جمله مواد بسیار فعال موجود در این گیاهان می‌باشند. این ترکیبات دارای ویژگی‌هایی مانند سایتوتوکسیسیستی، ضدتوموری، ضدالتهاپی، ضد میکروبی، افزایش فعالیت کولین استیل ترانسفراز و مهار آنزیم لیپید پراکسیداز می‌باشد. شالکون‌ها نیز از جمله ترکیبات فالوونوئیدی در گیاهان مانگرو به حساب می‌آیند، در مطالعه‌ای که Sato et al. (1997) روی این ترکیب انجام دادند مشخص شد که از این ترکیب می‌توان جهت درمان استوماتیت‌های باکتریایی استفاده نمود. همچنین نتایج حاصل از پژوهشی دیگر بر روی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه *H. Officinalis*، نشان داد که در میان باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* مورد بررسی، استینوباکتر بومانی بیش‌ترین حساسیت را به عصاره گیاه زوفا نشان داد و عصاره این گیاه از رشد و تشکیل بیوفیلم باکتری‌های مورد مطالعه جلوگیری کرد (Hassanshahian et al. 2019). پژوهش‌ها نشان می‌دهد اسانس زیرگونه‌های مختلف گیاه زوفا دارای اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی نیز می‌باشند. خاصیت ضد باکتریایی، ضدقارچی و آنتی اکسیدانی زوفا به وجود پینوکامفون، ایزو پینوکامفون و بتاپینن نسبت داده شده است (Kreis et al. 1990; Letessier et al. 2001; Özer et al. 2006). همین‌طور بیش‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه زوفا جمع‌آوری شده از استان البرز ایزوپینوکامفن، پینوکامفن، بتاپینن و پینوکارون گزارش شده است (Najafpour Navaei and Mirza 2003). در این بررسی نیز ترکیب *cis-pinocamphone* کم‌ترین انرژی برهمکنش را با هر سه پروتئین مورد مطالعه داشته است. همان‌طور که ذکر شد این ترکیب فیتوشیمیایی مشتق شده از گیاه *H. officinalis* بوده و یکی از عمده‌ترین ترکیبات موجود در این گیاه می‌باشد که عملکرد ضد باکتریایی آن به‌وسیله مطالعات آزمایشگاهی پیشین نیز تأیید شده بود (Zawiślak 2013).

مطالعات متعددی جهت بررسی اثرات گوناگون عصاره‌های گیاه شنگ صورت گرفته است. همان‌طور که ذکر شد در این بررسی ضعیف‌ترین برهمکنش‌ها مربوط به ترکیبات گیاه شنگ با پروتئین‌های مورد ارزیابی بود که در تطابق با مطالعات آزمایشگاهی پیشین بود. در مطالعه Talei et al. (2008) اثر عصاره گیاه شنگ (*Tragopon carcifolus*) بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بررسی هیچ‌گونه اثر ضد باکتریایی گیاه شنگ را نشان ندادند. همچنین Pirbalouti et al. (2017) در بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ روی اسپیتوباکتر بومانی در شرایط آزمایشگاهی به این نتیجه رسیدند که با توجه به اثر مهاری رشد بسیار ضعیف عصاره آبی و بی‌تأثیری عصاره الکلی می‌توان گفت گیاه شنگ فاقد اثر ضدباکتریایی مؤثر علیه اسپیتوباکتر بومانی می‌باشد. در نتایج حاصل از بررسی اثرات مهاری عصاره‌های گیاهی نظیر گیاه شنگ بر تشکیل بیوفیلم توسط سودوموناس آئروژینوزا، عصاره گیاه شنگ در غلظت‌های ۱/۵، ۳/۱، ۶/۲۵ و ۱۲/۵ ppm موجب کاهش سرعت تشکیل بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا شد (Mashhady et al. 2016). علاوه بر این در بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های گیاهی بر روی سودوموناس آئروژینوزا و اشیریشیا کولی، ۲۵ ppm بعنوان حداقل غلظت عصاره شنگ مهار کننده رشد و حداقل غلظت کشندگی

باکتریایی بر علیه سودوموناس آئروژینوزا تعیین شد (Jahani et al. 2016). در واقع تأثیر کم ضدباکتریایی گیاه شنگ در این بررسی بیوانفورماتیکی نیز به وضوح قابل مشاهده بود.

از آنجایی که بررسی‌های بیوانفورماتیک به دلیل خطای کمتر نسبت به سایر مطالعات، محققین را به هدف نزدیک می‌کند (Nosrati and Behbahani 2016). لذا در این پژوهش مطالعه بیوانفورماتیکی با استفاده از روش داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که اکثر برهمکنش‌ها و بیش‌ترین اسیدآمین‌های درگیر در برهمکنش مربوط به نواحی ۱۱۵-۱۱۱، ۱۲۸، ۱۳۰، ۱۶۸ و ۲۲۳-۲۱۹ در پروتئین 3G4P هستند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که دیگر اسیدآمین‌های درگیر در برهمکنش این پروتئین ser81 و Arg261 هستند. در مطالعات ساختاری روی OXA-24، شامل ترکیب پروتئین با دورپینم، می‌توان به احتمال وجود یک پل آبگریز از دهانه جایگاه فعال که توسط تیروزین ۱۱۲ روی موتیف ۲ و متیونین ۲۲۳ در پایانه C موتیف ۷ تشکیل شده است اشاره کرد (Smith et al. 2014). در مطالعه حاضر نیز دو اسید آمینه مذکور برهمکنش بالایی با ترکیبات گیاهی مورد استفاده در این پژوهش داشتند. علاوه بر این، در پژوهش حاضر تأثیر ترکیبات سه گونه گیاهی مذکور بر پروتئین‌های 4K0X و 1BXW نیز مورد بررسی قرار گرفت. در پروتئین 4K0X بیش‌ترین برهمکنش‌ها با لیگاندها در اسیدآمین‌های نواحی ۷۹، ۱۱۰، ۱۱۳، ۱۲۶، ۱۲۸، ۱۶۶ و ۲۱۹ اتفاق افتاده است. Jeon et al. (2015) نشان دادند جایگاه فعال OXA-23 در ترکیب با مروپنم شامل اسیدآمین‌های Ser79، Lys82، Phe110، Trp113، Ser126، Val128، Leu166، Trp219، Arg259 می‌باشد. در پژوهش حاضر نیز این نواحی بیش‌ترین برهمکنش را با ترکیبات فیتوشیمیایی برقرار نموده‌اند و همین امر می‌تواند موجب مهار این آنزیم توسط این ترکیبات شود. در پروتئین 1BXW بیش‌ترین آمینواسیدهای درگیر در برهمکنش مربوط به نواحی ۱۹، ۵۶، ۵۸، ۷۵-۷۲ و ۱۰۴-۱۰۰ است. از دیگر اسیدآمین‌های درگیر در برهمکنش این پروتئین مربوط به نواحی ۱۴۶-۱۴۴ و ۱۵۸-۱۵۷ هستند. نتایج حاضر نیز بیانگر درگیری اسیدآمین‌های پیرامون اسیدآمین‌های مذکور در برهمکنش با ترکیبات گیاهی مورد استفاده در این پژوهش است. این امر می‌تواند موجب مهار تشکیل و یا فعالیت این پروتئین گردد. همچنین این پروتئین برهمکنش‌های قوی‌تری را با ترکیبات گیاهی مذکور نسبت به سایر پروتئین‌های مورد مطالعه در این پژوهش داشته است. ترکیبات گیاهی cis-pinocamphone و 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid به ترتیب از گیاهان زوفا و مانگرو انرژی برهمکنش پایینی را با هر سه پروتئین داشته‌اند. برهمکنش لیگاندهای مذکور در برخی از نواحی با جایگاه‌های فعال این پروتئین‌ها مرتبط بوده و در نتیجه می‌توانند موجب مهار فعالیت این پروتئین‌ها شوند. بنابراین ترکیبات مذکور می‌توانند به عنوان نامزدهای بسیار مناسبی برای بررسی آزمایشگاهی و *in vivo* فعالیت ضد *A. baumannii* محسوب شوند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ترکیبات گیاهان زوفا و مانگرو برهمکنش‌های مناسبی را با

آنزیم‌های مذکور انجام می‌دهند. بررسی نواحی و شدت برهمکنش‌های انجام شده نشان داد که دو ترکیب cis-pinocamphone از گیاه زوفا و 3,5-difluorophenyl ester 2,6-difluorobenzoic acid از گیاه مانگرو با ایجاد

برهمکنش‌های قوی در جایگاه فعال این پروتئین‌ها می‌توانند موجب مهار فعالیت آن‌ها شوند. بنابراین می‌توانند به عنوان گزینه‌های مناسب و مؤثری جهت بررسی‌های مطالعات آزمایشگاهی و *in vivo* به منظور دستیابی به ترکیبات طبیعی با قابلیت کنترل و درمان عفونت‌های ناشی از *A. baumannii* در نظر گرفته شوند. لذا با توجه به نتایج این بررسی توصیه می‌شود قبل از بررسی‌های آزمایشگاهی که نیاز به هزینه و زمان زیادی دارند بررسی بیوانفورماتیکی جهت یافتن بهترین گیاهان و بهترین ترکیبات انجام شود سپس گیاهان انتخاب شده به منظور مطالعات بیشتر در شرایط آزمایشگاه و *in vivo* بررسی شوند.

سپاسگزاری: از آقای دکتر سید یوسف ابراهیمی پور به خاطر راهنمایی در زمینه نرم‌افزارهای مورد مطالعه تشکر و قدردانی

می‌شود.

منابع

حسن شاهیان م، سعادت فر ا، معصومی ف (۲۰۱۹) بررسی خواص ضد میکروبی گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis*) علیه باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم به انتی بیوتیک در فرم منفرد و بیوفیلم. زیست شناسی میکروارگانیسم ها ۷، ۹۱-۱۰۱.

قاسمی م، حبیبی ر، صدیقی م و همکاران (۲۰۱۹) اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ روی اسپیتوباکتر بائومانی در شرایط آزمایشگاهی. بیماری‌های عفونی و گرمسیری ۲۲، ۴۱-۴۵.

محمودپور م، عسکری ا، یوسفی ف و همکاران (۲۰۱۹) بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره خام برگ گیاه حرا بر روی سویه‌های استاندارد و بالینی *Acinetobacter baumannii* در شرایط *In-vitro* طب جنوب ۲۲، ۱۵۰-۱۵۹.

نجف پور نوایی م، میرزا م (۲۰۰۳) مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط کشت و رویشگاه طبیعی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۱۸، ۴۳-۵۱.

References

Amir GZ, Azadbakht M, Keshavarzi F (2000) *Echium amoenum* stimulate of lymphocyte proliferation and inhibit of humoral antibody synthesis. Iran J Med Sci 25, 119-124.

Bandaranayake WM (2002) Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. Wetlands Ecol Manage 10, 421-452.

Bayram Y, Parlak M, Aypak C et al. (2013) Three-year review of bacteriological profile and antibiogram of burn wound isolates in Van, Turkey. Int J Med Sci 10, 19-22.

Blundell TL, Sibanda BL, Montalvão RW et al. (2006) Structural biology and bioinformatics in drug design: opportunities and challenges for target identification and lead discovery. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biol Sci 361, 413-423.

- Chakraborty B, Nath A, Saikia H et al. (2014) Bactericidal activity of selected medicinal plants against multidrug resistant bacterial strains from clinical isolates. *Asian Pac J Trop Med* 7s1, S435-441.
- Daina A, Michielin O, and Zoete V (2017) SwissADME: A Free Web Tool To Evaluate Pharmacokinetics, Drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Sci Rep* 7, 1–13.
- DeLano WL (2002) The PyMOL molecular graphics system. San Carlos, CA: DeLano Scientific LLC.
- Farhoudi R (2013) Effect of drought stress on chemical constituents, photosynthesis and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *J Med Plant By-Product* 2, 17-22.
- Fathiazad F, Hamedeyazdan S (2011) A review on *Hyssopus officinalis* L.: Composition and biological activities. *Afr J Pharm Pharmacol* 5, 1959-1966.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG et al. (2008) Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance J* 23, 213-226.
- Ghasemi M, Habibi R, Sedighi M et al. (2019) Antibacterial effect of *Tragopogon graminifolius* DC hydroalcoholic extracts on *Acinetobacter baumannii* (In vitro study). *Iran J Infect Dis Trop Med* 22,41-45.
- Guedes IA, de Magalhães CS, Dardenne LE (2017) Receptor-Ligand Molecular Docking. *Biophys Rev* 6, 75-87.
- Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC et al (2012) Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform. *J Cheminform* 4, 1-17.
- Hassanshahian M, Saadatfar A, Masoumi F (2019) Antimicrobial properties of *Hyssopus officinalis* extract against antibiotic resistant bacteria in planktonic and biofilm form. *Biol J Microorganism* 7, 91-101.
- Heidari MR, Azad EM, Mehrabani M (2006) Evaluation of the analgesic effect of *Echium amoenum* Fisch & CA Mey. extract in mice: possible mechanism involved. *J Ethnopharmacol* 103, 345-349.
- Jahani S, Saeidi S, Javadian F et al. (2016) Investigating the antibacterial effects of plant extracts on *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Int J Infect* 3, 1-5.
- Jeon JH, Lee JH, Lee JJ et al. (2015) Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci* 16, 9654-9692.

- Karmostaji A, Najar Peerayeh S, Hatf Salmanian A (2013) Distribution of OXA-type class D β -lactamase genes among nosocomial multi drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in Tehran hospitals. *Jundishapur J Microbiol* 6, 15-21.
- Kreis W, Kaplan MH, Freeman J et al. (1990) Inhibition of HIV replication by *Hyssop officinalis* extracts. *Antiviral Res* 14, 323-337.
- Laskowski RA, Swindells MB (2011) LigPlot+: multiple ligand–protein interaction diagrams for drug discovery. *J Chem Inform Model* 51, 2778-86.
- Letessier M, Svoboda K, Walters D (2001) Antifungal activity of the essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis*). *J Phytopathol* 149, 673-678.
- Lin M-F, Lan C-Y (2014) Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World Journal of Clinical Cases: WJCC* 2, 787.
- Mahmudpour M, Askari A, Yousefi F (2019) Antibacterial effect leaf extract of *Avicennia marina* on standard and clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *Iran South Med J* 22, 150-159.
- Marino M, Bersani C, Comi G (2001) Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int J Food Microbiol* 67, 187-195.
- Mashhady MA, Abkhoo J, Jahani S et al. (2016) Inhibitory effects of plant extracts on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Int J Infect* 3, 34-41.
- Merkier AK, Centrón D (2006) blaOXA-51-type β -lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agent* 28, 110-113.
- Mimica-Dukić N, Bugarin D, Grbović S et al. (2010) Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecule* 15, 2759-2770.
- Molecular Property Predictions Osiris Property Explorer, From: <http://www.cheminformatics.ch/propertyExplorer/>, Accessed 6 July 2013.
- Morris GM, Huey R, Lindstrom W et al (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem* 30, 2785–2791.
- Najafpour Navaei M, Mirza M (2003) Comparative study on the essential oil composition of the leaves of *Hyssopus officinalis* L. in field and wild growing. *Iran J Med Aromatic Plant Res* 18, 43-51.
- Nosrati M, Behbahani M (2016) In vitro and in silico evaluation of antibacterial effect of methanolic extracts of *Prangos ferulacea* on single and biofilm structure of *Streptococcus mutans*. *SSU-J* 23, 1049-1062.
- Nosrati M, Shakeran Z, Shakeran Z (2018) Frangulosid as a novel hepatitis B virus DNA polymerase inhibitor: a virtual screening study. *In silico Pharmacol* 6, 1-9.

- Özer H, Sökmen M, Güllüce M et al. (2006) In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of *Hyssopus officinalis* L. ssp. angustifolius Ital J Food Sci 18, 90-99.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL (2008) *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 21, 538-582.
- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC et al. (2004) UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. J Comput Chem 25, 1605–1612.
- Pirbalouti AG, Malekpoor F, Salimi A et al. (2017) Effects of foliar of the application chitosan and reduced irrigation on essential oil yield, total phenol content and antioxidant activity of extracts from green and purple basil. Acta Sci Pol Hortorum Cultus 16, 177-186.
- Poirel L, Mansour W, Bouallegue O et al. (2008) Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Tunisia producing the OXA-58-like carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-97. Antimicrob Agent Chemotherapy 52, 1613-1617.
- Poirel L, Marqué S, Héritier C et al. (2005) OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agent Chemotherapy 49, 202-208.
- Pradhan J, Sahoo S, Lalotra S et al. (2017) Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. Int J Plant Sci (Muzaffarnagar) 12, 309-313.
- Ranjbar A, Khorami S, Safarabadi M et al. (2006) Antioxidant activity of Iranian *Echium amoenum* Fisch & CA Mey flower decoction in humans: a cross-sectional before/after clinical trial. Evidence-Based Complementary Alternative Med 3, 469-473.
- Ravikumar S, Gnanadesigan M, Suganthi P et al. (2010) Antibacterial potential of chosen mangrove plants against isolated urinary tract infectious bacterial pathogens. Int J Med Med Sci 2, 94-99.
- Saad S, Taher M, Susanti D et al. (2012) In vitro antimicrobial activity of mangrove plant *Sonneratia alba*. Asian Pacific J Trop Biomed 2, 427-429.
- Saeidi S, Shiri Y, Bokaeian M et al. (2014) Antibacterial activity of essential oil of *Saturejahortensis* against multi-drug resistant bacteria. Int J Enteric Pathog 2, 1-4.
- Said-Al Ahl HA, Abbas ZK, Sabra AS et al. (2015) Essential oil composition of *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Egypt. Int J Plant Sci Ecol 1, 49-53.
- Sato M, Tsuchiya H, Akagiri M et al. (1997) Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. Aust Dental J 42, 343-346.
- Savithramma N, Rao ML, Suhulatha D (2011) Screening of medicinal plants for secondary metabolites. Middle-East J Sci Res 8, 579-584.

- Savoia D (2012) Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol* 7, 979-990.
- Smani Y, Fàbrega A, Roca I et al. (2014) Role of OmpA in the multidrug resistance phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agent Chemother* 58, 1806-1808.
- Smith CA, Antunes NT, Toth M et al. (2014) Crystal structure of carbapenemase OXA-58 from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 58, 2135-2143.
- Spence RP, Towner KJ, Henwood CJ et al. (2002) Population structure and antibiotic resistance of *Acinetobacter* DNA group 2 and 13TU isolates from hospitals in the UK. *J Med Microbiol* 51, 1107-1112.
- Srivastava A, Awasthi K, Kumar B et al. (2018) Pharmacognostic and pharmacological evaluation of *Hyssopus officinalis* L.(Lamiaceae) collected from Kashmir Himalayas, India. *Pharmacognosy J* 10, 1-9.
- Talei GR, Meshkatsadat MH, Mosavi SZ (2008) Antibacterial activity native medicinal plants extracts in Lorestan, Iran. *J Gorgan Uni Med Sci* 10, 31-35.
- Trott O, Olson AJ (2010) AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comp Chem* 31, 455-461.
- Turton JF, Woodford N, Glover J et al. (2006) Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol* 44, 2974-2976.
- Vallejo MCG, Herraiz JG, Pérez-Alonso MJ et al. (1995) Volatile oil of *Hyssopus officinalis* L. from Spain. *J Essential Oil Res* 7, 567-568.
- Weinstein RA (2001) Controlling antimicrobial resistance in hospitals: infection control and use of antibiotics. *Emerging Infect Disease* 7, 188.
- Zawiślak G (2013) Morphological characters of *Hyssopus officinalis* L. and chemical composition of its essential oil. *Modern Phytomorphol* 4, 93-95.
- Zidorn C, Ellmerer E, Sturm S et al. (2010) E and F from tragopogons and distribution of caffeic acids, lignans and tyrolobibenzyls in European taxa of the subtribe Scorzonerinae(Lactuceae, Asteraceae). *Phytochem* 63, 61-67.

