

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد بیوفیلمی ترکیبات موثر گیاهی بر باکتری استرپتوکوکس موتانس: مطالعه
بیوانفورماتیکی

زهرا زحمتکش سرایدشتی^۱، منصوره حسینی^۲، نسیم بابک نژاد^۳، ساناز بهنام^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی داروسازی، موسسه آموزش عالی نقش جهان اصفهان

<mailto:zahmatkeshzahra503@gmail.com>

۲- استادیار، عضو هیئت علمی و مدیر گروه زیست شناسی، موسسه آموزش عالی نقش جهان اصفهان

mansooerhosainy@yahoo.com

۳- استادیار، گروه شیمی و مهندسی شیمی، موسسه آموزش عالی نقش جهان اصفهان

n.babaknejad@gmail.com

۴- استادیار عضو هیئت علمی و مدیر گروه شیمی، موسسه نقش جهان اصفهان

Behnam_sanaz@yahoo.com

:

نگارش

زهرا زحمتکش سرایدشتی

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

چکیده

پوسیدگی دندان یکی از شایع ترین و پرهزینه ترین بیماری های عفونی مرتبط با بیوفیلم در سراسر جهان است. *استرپتوکوک موتانس* به دلیل توانایی سنتز مواد پلیمری خارج سلولی و ایجاد شرایط اسیدی به عنوان عامل اصلی پوسیدگی دندان شناخته شده است. افزایش مقاومت میکروارگانیسم ها به آنتی بیوتیک ها به یک نگرانی علمی تبدیل شده است. تا به امروز، بسیاری از ترکیبات ثانویه گیاهی با فعالیت های بیولوژیکی متنوع شامل فعالیت های ضد باکتری، ضد قارچ و ضد سرطانی شناسایی شده اند. بنابراین در این مطالعه، عوامل ضد میکروبی گیاهی به عنوان عامل ایجاد بیوفیلم و *S. mutans* غربالگری شد و تاثیر این ترکیبات در مهار آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز پلاک دهانی از طریق داکینگ مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه با استفاده از غربالگری مجازی تمامی ترکیبات گیاهی شامل سه گروه اصلی فلاوونوئیدها، تریپنوئیدها و آلکالوئیدها استخراج شدند.

کلمات کلیدی: پوسیدگی دندان، *استرپتوکوک موتانس*، ترکیبات ثانویه گیاهی، گلوکوزیل ترانسفراز، فلاوونوئیدها، تریپنوئیدها و آلکالوئیدها

Investigating the Antimicrobial and Anti-biofilm Effective of Active Plant Compounds on *Streptococcus mutans*: a Bioinformatics Study

Abstract

Dental caries is one of the most common and costly infectious diseases related to biofilm worldwide. *Streptococcus mutans* is known as the main cause of tooth decay due to its ability to synthesize extracellular polymeric substances and create acidic conditions. Increasing resistance of microorganisms to antibiotics has become a scientific concern. To date, many plant secondary compounds with diverse biological activities including antibacterial, antifungal and anticancer activities have been identified. Therefore, in this study, herbal antimicrobial agents were screened and the effect of these compounds in inhibiting *S. mutans* glucosyltransferase enzyme as a factor in creating biofilm and oral plaque was studied by molecular docking. In this study, using virtual screening, all plant compounds including three main groups of flavonoids, terpenoids and alkaloids were extracted.

Keywords: Tooth decay, *Streptococcus mutans*, plant secondary compounds, glucosyltransferase, flavonoids, terpenoids and alkaloids.

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۶-۵ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

- مقدمه

پذیری را در مهار بیوفیلم‌های میکروبی نشان داده‌اند. این روش‌ها عوامل درمانی بالقوه‌ای را برای ترویج کنترل هدفمند بیوفیلم‌های میکروبی دهان در آینده نزدیک فراهم می‌کنند(۴).

بنابراین در این مطالعه، عوامل ضد میکروبی گیاهی غربالگری خواهد شد و تاثیر این ترکیبات در مهار آنزیم گلوکوزیل اس موتانس به عنوان عامل ایجاد بیوفیلم و پلاک دهانی از طریق فناوری رایانه و داکینگ مولکولی مورد مطالعه قرار خواهد گرفت.

پوسیدگی دندان

پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قابل پیشگیری است که به عنوان عامل اصلی درد و از دست دادن دندان شناخته می‌شود(۵). در پوسیدگی دندان بافت بدون سلولی سخت دندانی توسط محصولات اسیدی حاصل از تخمیر باکتریایی کربوهیدرات‌های غذا به ویژه ساکارز است تخریب می‌گردد(۶).

پوسیدگی اولیه می‌تواند در سطوح پروگزیمال^۵ دندان رخ دهد. در سطح، ضایعه شروع شده و در زیر ناحیه تماس بین دندان‌ها ادامه می‌یابد. پوسیدگی روی سطح اکلوزال^۶ نیز یک پدیده موضعی در گودال و شکاف‌های دندانی است. در هر دو سطح اکلوزال و پروگزیمال، پوسیدگی مینای دندان یک فرآیند دیمینرالیزه شدن^۷ زیرسطحی سه بعدی است که در امتداد منشورهای مینای دندان پخش می‌شود. این فرآیند منجر به ضایعات پوسیدگی و ضایعه می‌شود(۷). پوسیدگی ثانویه ضایعه‌ای

پوسیدگی دندان^۱ یکی از شایع‌ترین و پرهزینه‌ترین بیماری‌های عفونی مرتبط با تشکیل بیوفیلم^۲ در سراسر جهان است(۱). استرپتوکوک موتانس^۳ به دلیل توانایی سنتز مواد پلیمری خارج سلولی^۴ و ایجاد شرایط اسیدی به عنوان عامل اصلی پوسیدگی دندان شناخته شده است(۲). تا به امروز، بسیاری از ترکیبات ثانویه گیاهی با فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع شامل فعالیت‌های ضد باکتری، ضد قارچ و ضد سرطانی شناسایی شده‌اند. در این راستا، بسیاری از متابولیت‌های ثانویه گیاهی جداسازی، خالص سازی و شناسایی شده‌اند(۳).

با توسعه فناوری رایانه، رویکردهای جدیدی به منظور کشف عوامل ضد میکروبی استفاده می‌شود. روش داکینگ مولکولی برای شبیه سازی برهم کنش‌ها استفاده می‌شود و از طرف دیگر با در نظر گرفتن ویژگی‌های ساختاری مولکول مورد نظر و ساختار سایر مولکول‌ها به جستجوی ترکیبات مشابه در پایگاه‌های داده می‌پردازد(۴).

مزیت این روش‌ها نسبت به روش‌های آزمایشگاهی علاوه بر کاهش زمان و هزینه، غربالگری داروهاست. ترکیبات طبیعی ضد میکروبی بر اساس طراحی منطقی، طراحی محاسباتی یا غربالگری با توان بالا، گزینش

⁵Proximal levels

⁶Occlusal surface

⁷Demineralization

¹Dental decay

²Biofilm

³*Streptococcus mutans* (*S. mutans*)

⁴Extracellular polymeric substances (EPSs)

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

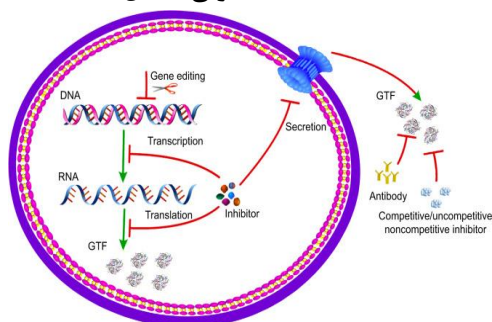
۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

گلیکوزیل ترانسفراز اس موتانس

گلیکوزیل ترانسفراز یک آگزوانزیم و یکی از فاکتورهای حیاتی باکتری استرپتوکوک موتانس، عامل اصلی بیماری پوسیدگی دندان است. تمام شواهد موجود نشان می‌دهد که پلی ساکارید خارج سلولی، به ویژه گلوکان‌های تولید شده توسط گلیکوزیل ترانسفرازها، به پوسیدگی‌زایی بیوفیلم‌های دندانی کمک می‌کند. گلیکوزیل ترانسفرازها گلوکان را از ساکارز سنتز می‌کنند (۱۴).

مهار گلیکوزیل ترانسفراز استرپتوکوکوس موتانس

اساس تحقیقات انجام شده تا کنون، مکانیسم مولکولی بازدارنده‌های فعلی در برابر گلیکوزیل ترانسفراز را می‌توان به سه دسته به شرح زیر طبقه بندی کرد: (۱) تعدیل بیان ژن‌های گلیکوزیل ترانسفراز در سطح رونویسی. (۲) کاهش فعالیت‌های آنزیمی (۳) تنظیم ترشح گلیکوزیل ترانسفراز در خارج از سلول از طریق ائتلاف نیروی محرکه پروتون در سراسر غشای سلولی (شکل ۱) (۱۵، ۱۶).



(شکل ۱) مکانیسم‌های مهار گلیکوزیل در تشکیل بیوفیلم (۳۹)

استراتژی دیگر برای مهار سنتز پلی ساکارید، غربالگری یا حتی طراحی مولکول‌های کوچک جدیدی است که به طور خاص به جایگاه فعال

است که در حاشیه ترمیم دندان قرار دارد. این ضایعه پوسیدگی در مجاورت حاشیه است و ممکن است علائمی از دمنرالیزاسیون (ضایعات دیواره) در امتداد دیواره حفره دندانی باشد که می‌تواند نتیجه ریزش باشد (۸).

استرپتوکوکوس موتانس

استرپتوکوک موتانس یک کوکسی بی هوازی اختیاری و گرم مثبت است که معمولاً در حفره دهان انسان یافت می‌شود و عامل مهمی در پوسیدگی دندان است. این میکروب برای اولین بار توسط جیمز کیلیان کلارک در سال ۱۹۲۴ کشف شد (۱۵). وجود همزمان باکتری و قارچ می‌تواند به افزایش پتانسیل موتانس کمک کند (۹).

ایجاد بیوفیلم

جوامع بیوفیلم میکروبی در سطوح مخاطی، از جمله روده، واژن، دهان و بینی یافت می‌شوند (۱۰). بیوفیلم در ۵ مرحله ایجاد می‌شود، مرحله نخست اتصال اولیه است که پیل‌ها و مولکول‌های چسبنده در این اتصال نقش دارند (۱۱). طی مرحله دوم حرکت سلول‌ها کم شده و باکتری‌ها تجمع می‌یابند، این اتصال غیرقابل برگشت می‌باشد، سپس آگزوپلی ساکارید خارجی تولید شده که نقش خانه را مرحله برای میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌نماید. سوم با افزایش ضخامت تا ۱۰ میلی متر و اتصال و تجمع باکتری‌ها همراه است، بیوفیلم با افزایش ضخامت بیش از ۱۰ میلی متر تشکیل در مرحله آخر، تولید سلول‌های دختر می‌گردد. و جدا شدن سلول‌ها اتفاق می‌افتد که در بعضی از رفرنس‌ها با عنوان حرکت موقت شناخته می‌شود (۱۲، ۱۳).

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

در حدود ۱۲۰۰۰ ترکیب، و فنولیک^{۱۲} در حدود ۸۰۰۰ ترکیب گوناگون را شامل می‌شوند اما علاوه بر این متابولیت‌ها، می‌توان به روغن‌های ضروری، فانونوئیدها^{۱۳} و کلاس‌های دیگر اشاره کرد^(۲۵).

ترپنوئیدها متنوع ترین ترکیبات طبیعی گیاهی از لحاظ ساختاری می‌باشند. این ترکیبات با توجه به کاربرد وسیعی که در تولیدات صنعتی از جمله چاشنی‌ها، داروها، عطرها و حشره‌کش‌ها و عوامل ضد میکروبی دارند، از لحاظ تجاری بسیار حائز اهمیت می‌باشند^(۲۶).

آلکالوئیدها به ترکیباتی گفته می‌شود که دست کم دارای یک اتم نیتروژن در حلقه هتروسیکلیک هستند. این دسته از متابولیت‌های ثانویه نقش عمده‌ای دفاعی داشته و بعضاً به عنوان منابعی برای ذخیره نیتروژن در گیاه مطرح می‌شوند. از جمله مهم‌ترین آلکالوئیدها میتوان به مورفین و کدئین اشاره کرد^(۲۷).

در گیاهان عالی به ویژه نهاندانگان حدود ۴۰۰۰ نوع فلاونوئید شناسایی شده که بیش از ۹۰ نوع فلاونوئید در مرکبات و بیش از ۳۰ نوع در خانواده کمپوزیته موجود است. در میان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها کلیه اعمال متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان دارا می‌باشند. فلاونوئیدها از مشتقات فنیل پروپانوئید هستند که دارای ساختمان ۱۵ کربنه می‌باشند^(۲۸).

بیوانفورماتیک^{۱۴}

طراحی و توسعه دارو یک حوزه مهم تحقیقاتی در شرکت‌های داروسازی و دانشمندان شیمی است^(۲۹). هوش مصنوعی در زمینه‌های

گلیکوزیل ترانسفراز متصل می‌شوند و فعالیت کاتالیزوری آن را مهار می‌کنند^(۱۷).

اثرات بازدارنده چندین محصول طبیعی مانند بره موم، ترکیبات گیاهی، عصاره زغال اخته و جای سبز نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند. محصولات طبیعی و مشتقات آن‌ها فعالیت‌های بازدارنده‌ای را در برابر رشد اس موتانس نشان می‌دهند^(۱۸). علاوه بر این، ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی، جستجو برای عوامل ضد باکتریایی جدید را ضروری کرده است که پاتوژن‌های باکتریایی خاص دهان را هدف قرار می‌دهند و از تشکیل جـلوگیر می‌کنند^(۱۹،۲۰).

متابولیت‌های گیاهی

گیاهان تنوع زیستی بالایی دارند^(۲۱). متابولیت‌های اولیه^۸ مانند کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و اسیدهای آلی در رشد و نمو، تنفس و فتوسنتز و سنتز هورمون و پروتئین نقش دارند^(۲۲). متابولیت‌های ثانویه گیاهی^۹ مانند ترپنوئیدها^{۱۰}، فنول‌ها و ترکیبات حاوی نیتروژن به عنوان مولکول‌های سیگنال در شرایط تنش عمل می‌کنند^(۲۳). بسیاری از ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی به عنوان مواد اولیه اصلی برای دارو استفاده می‌شوند. متابولیت‌های گیاهی به عنوان پیش‌سازهای دارویی، نمونه‌های اولیه و پروب‌های دارویی استفاده می‌شوند^(۲۴).

متابولیت‌های ثانویه به طور عمده به سه کلاس ترپنوئیدها^{۱۱} که در حدود ۲۵۰۰۰، آلکالوئیدها^{۱۱}

¹²Phenolic

¹³Flavonoids

¹⁴Bioinformatics

⁸Primary metabolites

⁹Secondary metabolites

¹⁰Terpenoids

¹¹Alkaloids

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

مطالعه زیاد و همکاران در ۲۰۲۱ با هدف جداسازی استرپتوکوک موتانس از نمونه های خوراکی مختلف از نمونه های بزاق و پلاک های دندانی به منظور تعیین قابلیت آن ها برای تشکیل بیوفیلم و ارزیابی فعالیت آنتی بیوفیلمی عصاره های آبی و الکلی چای سبز انجام شد. نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکننده بیوفیلم (MBICs) عصاره های الکلی و آبی چای سبز به ترتیب در بیوفیلم محدوده ۳/۱ تا ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و بر این ۶/۵ تا ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. اساس، عصاره چای سبز را می توان در داروهای مختلف خوراکی به منظور جلوگیری از پوسیدگی دندان قرار داد (۳۲).

مجازی غربالگری

استخراج داده

در این مطالعه با استفاده از غربالگری مجازی و پایگاه داده PSC-db تمامی ترکیبات گیاهی شامل سه گروه فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و آلکالوئیدها استخراج شدند. در این مرحله در مجموع تعداد ۳۲۶ ترپنوئید، ۹۳۹ آلکالوئید و ۱۱۶۰ فلاونوئید استخراج گردید. همچنین و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مورد نظر در جدول زیر نشان داده شده است (جدول ۱). مراحل انجام این طرح و نتایج عددی ترکیب های بدست آمده در هر مرحله از غربالگری و بعد از اعمال فیلتر در فلوچارت زیر خلاصه شده است (شکل ۲). بعد از اعمال فیلتر تعدادی از ۴۰ فلاونوئید، ۱۹ ترپنوئید و ترکیبات حذف گردید. در نهایت ۴۰ فلاونوئید، ۱۹ ترپنوئید و ۴۳ آلکالوئید نهایی وارد مرحله داکینگ مولکولی شدند.

مختلف طراحی و فرآیند توسعه دارو، از جمله از سنتز پپتید تا طراحی مولکول، غربالگری مجازی تا اتصال مولکولی، رابطه کمی ساختار- فعالیت با تغییر مکان دارو و اصلاح اشتباهات ساختاری پروتئین استفاده شده است (۳۰). داکینگ مولکولی^{۱۵} یک ابزار کلیدی در زیست شناسی مولکولی ساختاری و طراحی دارویی به کمک کامپیوتر است. در داکینگ مولکولی هدف از اتصال لیگاند-پروتئین پیش بینی حالت (های) اتصال غالب لیگاند با پروتئین با ساختار سه بعدی می باشد. داکینگ را می توان به منظور انجام غربالگری مجازی در کتابخانه های بزرگ ترکیبات، رتبه بندی نتایج و پیشنهاد فرضیه های ساختاری در مورد نحوه مهارکنندگی لیگاندها استفاده کرد که در بهینه سازی ترکیب الگو بسیار ارزشمند است (۳۱).

یکی از مشکلات عمده در علم پزشکی، وجود عوارض جانبی داروهای شیمیایی و همچنین هزینه های سنگین برای درمان پوسیدگی دندان است، به همین دلیل استفاده از منابع طبیعی مثل گیاهان برای تولید داروهای سودمند و مفید توجه محققین را به خود جلب نموده است. از بین بردن باکتری عامل بیماری و پوسیدگی دندان عمدتاً بسته به تخریب آن یا جلوگیری از تشکیل بیوفیلم بسیار حائز اهمیت است هدف ما از این تحقیق، بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد بیوفیلمی ترکیبات موثر گیاهی بر روی استرپتوکوک موتانس به روش مطالعه بیوانفورماتیکی می باشد.

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

نتایج داکینگ فلاونوئیدها علیه آنزیم

گلیکوزیل ترانسفراز

پس از انجام داکینگ مولکولی و بررسی انرژی اتصال ۴۰ ترکیب فلاونوئیدی علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز ۵ ترکیب با بهترین انرژی اتصال انتخاب گردید. در جدول ۳-۴ نتایج داکینگ، ۵ ترکیب برتر فلاونوئیدها علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز نشان داده شده است. نتایج با سه ترکیب آکاربوز، مالتوز، و WP1066 به عنوان مهار کننده گلیکوزیل ترانسفراز مقایسه شدند. در این جدول مقادیر کمترین انرژی آزاد اتصال نوع برهمکنش ها و ها آورده آمینواسیدهای درگیر در برهمکنش شده است.

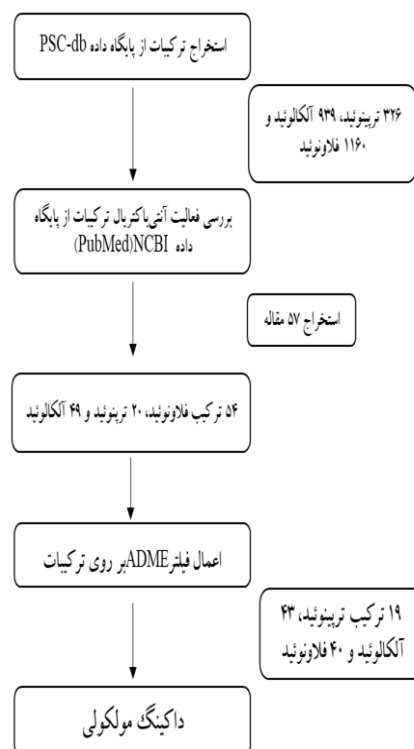
Ligand Name	Binding Energy (Kcal/mol)	Hydrogen bond interaction	Hydrophobic interaction
Isoginkgetin	-11.00	Arg540(2.71), Asp593(2.93), Glu592(3.29), Asn591(4.2.95), Asn862(3.25)	Trp517, Tyr610, Asp588, Asn909, His587, Tyr916, Ala478, Asp477, Leu433, Tyr430, Gly429
Hesperidin	-9.80	Tyr430(2.75), Asn418(2.76), Asp593(2.81), Arg540(3.13), Asn537(2.94), Tyr519(3.11), Thr426(2.85)	Gly429, Ser518, Leu433, Trp517, Asp588, Ser389, Glu590, Leu541, Asp480, Asp424, Gly429, Gly428, Glu592, Tyr610, Asp593, Leu434, Asp909, Ala478, Asp477, Trp517, Asn481, Tyr430, Asp480
Auricularin	-9.40	Glu515(3.16)	Asp480, Gly428, Gly429, Tyr610, Glu592, Asp593, Asp909, Leu434, Asp477, Ala478, Tyr430, Asn481, Trp517
Warangalone	-9.30	Glu515(3.18)	Asp480, Gly428, Gly429, Tyr610, Glu592, Asp593, Asp909, Leu434, Asp477, Asp478, Tyr430, Asn481, Trp517
Glabridin	-9.20	Glu515(3.18), Asp481(3.16)	Asp480, Gly428, Gly429, Tyr610, Glu592, Asp593, Asp909, Leu434, Asp477, Asp478, Tyr430, Asn481, Trp517
آکاربوز	-8.80	Gly429(3.00), Asn862(3.30), Asp477(2.80), Asp909(2.94), Asp480(3.17), Thr426(2.87)	Gly428, Trp517, Leu433, Leu434, Glu592, Leu582, Asp588, His587, Tyr916, Ala478, Asn481, Tyr430
مالتوز	-7.10	-	Trp517, Asp588, Asp477, Tyr916, Glu515, His587, Glu592, Asp593
WP1066	-7.00	Tyr430(2.84), Glu592(2.71), Asn514(3.014), Asp909(2.71), Glu515(2.92), Asn481(3.16)	Leu433, Leu382, Phe904, Asp588, His587, Tyr916, Ala478, Asp477

جدول ۲. نتیجه داکینگ فلاونوئیدها علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز

همانطور که در جدول ۲ آمده است برهمکنش ترکیبات با آنزیم از طریق برهمکنش های آبگریز و هیدروژنی بوده است. به طور کلی ترکیب Isoginkgetin با حداقل انرژی اتصال (-11) کیلو کالری برمول موثرترین اتصال با آنزیم را داشت. در اتصال این ترکیب به آنزیم برهمکنش های آبگریز و شامل اسید آمینه های

ویژگی
وزن مولکولی کم تر و یا مساوی ۵۰۰ دالتون
تعداد باندهای قابل چرخش کمتر و یا مساوی ۱۰
تعداد باندهای هیدروژنی گیرنده کم تر و یا مساوی ۱۰
تعداد باندهای هیدروژنی دهنده کم تر و یا مساوی ۵
TPSA ترکیبات کمتر و یا مساوی ۱۴۰
Consensus Log P کم تر و یا مساوی ۵
جذب گوارشی بالا
عبور نکردن از سد خونی-مغزی
سویترای پمپ P-glycoprotein نباشد
مهار کننده CYP3A4 نباشد

جدول ۱. ویژگی ترکیبات انتخاب شده در مطالعه



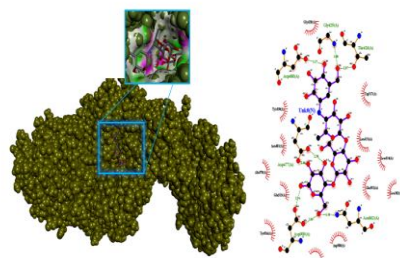
شکل ۲. فلوجارت غربالگری مجازی

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان



شکل ۶. نمای ۲ و ۳ بعدی از برهمکنش ترکیب آکاربوز با آنزیم
گلیکوزیل ترانسفراز بعد از انجام داکینگ

نتایج داکینگ آلکالوئیدها علیه آنزیم گلیکوزیل
ترانسفراز

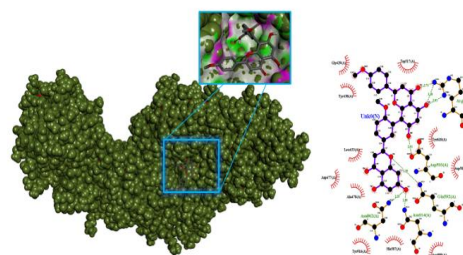
پس از انجام داکینگ مولکولی و بررسی انرژی
اتصال ۴۳ ترکیب آلکالوئیدی علیه آنزیم
گلیکوزیل ترانسفراز ۵ ترکیب با کمترین انرژی
اتصال انتخاب گردید. در جدول ۳ نتایج
داکینگ، ۵ ترکیب برتر آلکالوئیدی علیه آنزیم
گلیکوزیل ترانسفراز نشان داده شده است.
نتایج با سه ترکیب آکاربوز، مالتوز، به عنوان
مهارکننده استاندارد گلیکوزیل ترانسفراز
مقایسه شدند. در این جدول مقادیر کمترین
انرژی آزاد اتصال، نوع برهمکنش ها
ها آمینواسیدهای درگیر در برهمکنش

Ligand Name	Binding Energy, ΔG (Kcal/mol)	Hydrogen bond interaction	Hydrophobic interaction
Phenanthroindolizidine	-9.90	Tyr430(3.90)	Trp517, Asp909, Tyr916, Leu433, Leu434, Ala478, Glu515, Asp477, Trp517, Asp480, Asn480
Dehydroevodiamine	-9.50	Asp588(2.99)	Gln592, His587, Trp916, Asp477, Leu433, Glu515, Asn481, Trp517, Asn481, Asp477, Asp588, Tyr916, Gln960, Ala478, Trp517, Tyr430, Glu515, His587
Ibogaïne	-9.20	-	Ser589, Arg540, Leu433, Leu434, Asp477, Glu515, Ala478, Trp517, Asp480, Tyr430, Asn481, Arg540, Leu382, Tyr916, Asp588, Ser589, Trp517, Asp593
Rhetsinine	-9.00	Asp588(3.17), Asn481(3.20)	Gly428, Trp517, Leu433, Leu434, Gln592, Leu382, Asp588, His587, Tyr916, Ala478, Asn481, Tyr430
Typhoroline	-8.90	Gln892(2.84)	Trp517, Asp588, Asp477, Tyr916, Glu515, His587, Phe904, Gln592, Asp593
آکاربوز	-8.80	Gly429 (3.00), Asn862(3.30), Asp477(2.80), Asp909(2.94), Asp480(3.17), Thr426(2.87)	-
مالتوز	-7.10	-	-
WP1066	-7.00	Tyr430(2.84), Gln592(2.71), Asn914(3.014), Asp909(2.71), Glu515(2.92), Asn481 (3.16)	Leu433, Leu382, Phe904, Asp588, His587, Tyr916, Ala478, Asp477

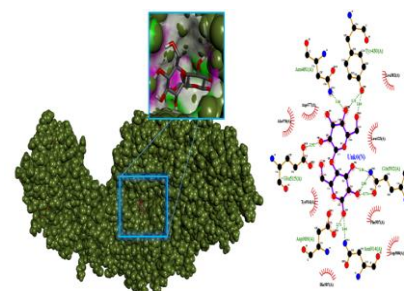
جدول ۳. نتیجه داکینگ آلکالوئیدها علیه آنزیم گلیکوزیل
ترانسفراز.

Asp909, Asp588, Trp517, His587 بود.
همچنین اسید آمینه های Glu592, Arg540
آنزیم با این فلاونوئید Isoginkgetin پیوند
هیدروژنی داشتند. در مقایسه با داروهای
استاندارد آکاربوز (-۸/۸) کیلو کالری بر مول و
مالتوز (-۷/۱) کیلو کالری بر مول فلاونوئیدها
انرژی اتصال کمتری و بنابراین اتصال بهتری
داشتند.

تصاویر برهمکنش ۵ ترکیب برتر فلاونوئیدی با
آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز و همینطور موقعیت
و هیدروژنی باندهای آنزیم، در ترکیبات
اسید آمینه های با هیدروفوبیک برهمکنش های
درگیر را نشان می دهند.
این تصاویر به وسیله نرم افزار LigPlot⁺ و



شکل ۴. نمای ۲ و ۳ بعدی بعد از انجام داکینگ از برهمکنش ترکیب
Isoginkgetin با آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز



شکل ۵. نمای ۲ و ۳ بعدی از برهمکنش ترکیب مالتوز با آنزیم
گلیکوزیل ترانسفراز بعد از انجام داکینگ.

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

نتایج داکینگ ترپنوئیدها علیه آنزیم

گلیکوزیل ترانسفراز

پس از انجام داکینگ مولکولی و بررسی انرژی اتصال ۱۹ ترکیب ترپنوئید علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز ۵ ترکیب با کمترین انرژی اتصال انتخاب گردید. در جدول ۴ نتایج داکینگ، ۵ ترکیب برتر ترپنوئید علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز نشان داده شده است. نتایج با سه ترکیب آکاربوز، مالتوز، و به عنوان مهارکننده استاندارد گلیکوزیل ترانسفراز مقایسه شدند. در این جدول مقادیر کمترین انرژی آزاد اتصال، نوع برهمکنش ها و ها آورده آمینواسیدهای درگیر در برهمکنش شده است.

Ligand Name	Lowest Binding Energy, ΔG (Kcal/mol)	Hydrogen bond interaction	Hydrophobic interaction
Bornyl acetate	-6.90	Gln192(3.00)	Leu434, Asp588, Asp909, Asp477, His587, Tyr916
Farnesol	-6.60	Asp909(2.78), Asn862(3.12), Gln592(2.88)	Leu382, Tyr610, Leu433, Ala478, Glu515, Tyr916, His587, Asp477
Borneol	-6.40	Gln192(3.30)	His587, Tyr916, Asp588, Leu434, Asp477, Asp909
Thymol	-6.20	-	Gln960, Leu434, Asp909, Tyr610, Gln592, Phe907, Asp477, Tyr916
Isoborneol	-6.10	Glu515(2.92)	Asp477, Gln592, His587, Leu434, Leu433, Asp588, Asp909, Tyr916, Phe215
آکاربوز	-8.80	Gly429 (3.00), Asn862(3.30), Asp477(2.80), Asp909(2.94), Asp480(3.17), Thr426(2.87)	Gly428, Trp517, Leu433, Leu434, Gln592, Leu382, Asp588, His587, Tyr916, Ala478, Asn481, Tyr430
مالتوز	-7.10	-	Trp517, Asp588, Asp477, Tyr916, Glu515, His587, Phe904, Gln592, Asp593
WP1066	-7.00	Tyr430(2.84), Gln592(2.71), Asn914(3.014), Asp909(2.71), Glu515(2.92), Asn481 (3.16)	Leu433, Leu382, Phe904, Asp588, His587, Tyr916, Ala478, Asp477

جدول ۴. نتیجه داکینگ ترپنوئیدها علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز

همانطور که در جدول ۴ مشخص شده است ترکیبات ترپنوئیدی از طریق برهمکنش های آبگریز و هیدروژنی به آنزیم گلیکوزیل با ترانسفراز متصل شده اند. به طور کلی ترکیب Bronyl-acetate حداقل انرژی اتصال (۶/۹-) کیلو کالری برمول موثرترین اتصال با آنزیم را در بین این پنج ترکیب داشت. در

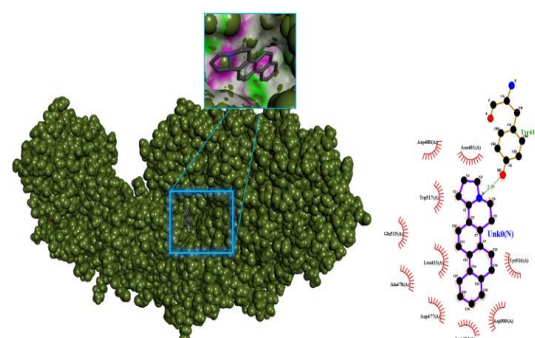
همانطور که در جدول ۳ مشخص شده است ترکیبات آلکلوئیدی از طریق برهمکنش های آبگریز و هیدروژنی به آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز متصل شده اند.

به طور کلی ترکیب

Phenanthroindolizidine با حداقل انرژی

اتصال (۹/۹-) کیلو کالری بر مول موثرترین اتصال را داشت.

در این اتصال ترکیب به آنزیم برهمکنش های و شامل اسید آمینه Asp909, Asp588, His58, Tyr430 با بود. همچنین اسید آمینه های Tyr430 آنزیم با ترکیب پیوند هیدروژنی داشت. در مقایسه با داروهای استاندارد آکاربوز (۷/۸-) کیلو کالری برمول، مالتوز (۷/۱-) کیلو کالری برمول ترکیبات آلکلوئیدی انرژی اتصال کمتر و بنابراین بهتری داشتند.



شکل ۷. نمای ۲ و ۳ بعدی از برهمکنش ترکیب بعد گلیکوزیل ترانسفراز با آنزیم Phenanthroindolizidine از انجام داکینگ

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

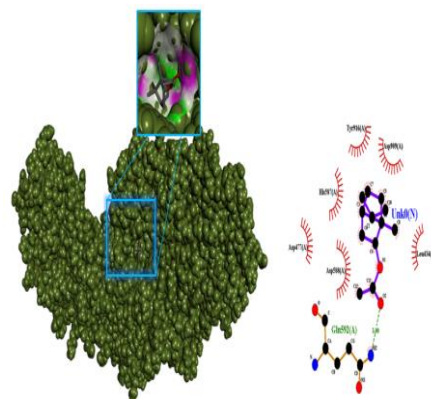
عامل اصلی در پاتوژنز پوسیدگی دندان است. استفاده از ترکیبات ثانویه گیاهی به منظور جلوگیری از پاتوژن‌ها همواره مورد توجه محققین بوده است. استفاده از این متابولیت‌های گیاهی روشی امیدوارکننده در شناسایی ترکیبات زیست فعال جدید است که می‌تواند برای تولید داروهای ضد میکروبی جدید در درمان پاتوژن‌های مقاوم به چند دارو استفاده شود. استفاده از ترکیبات ثانویه گیاهی به منظور جلوگیری از پاتوژن‌ها همواره مورد توجه محققین بوده است. استفاده از این متابولیت‌های گیاهی روشی امیدوارکننده در شناسایی ترکیبات زیست فعال جدید است که می‌تواند برای تولید داروهای ضد میکروبی جدید در درمان پاتوژن‌های مقاوم به چند دارو استفاده شود. روش‌های درون رایانه‌ای مانند غربالگری مجازی و یادگیری ماشینی می‌تواند مولکول‌های کوچکی را کشف کند که عوامل اصلی تولید بیوفیلم را مهار کنند.

با توجه به مطالب گفته شده، گسترش پاتوژن‌های مقاوم به چند دارو و کاهش تعداد آنتی بیوتیک‌های موجود، توجه روز افزونی به استفاده از منابع گیاهی برای شناسایی عوامل ضد میکروبی جدید قوی را به وجود آورده است. بنابراین در این مطالعه، ترکیبات ثانویه گیاهی غربالگری گردید و تاثیر این ترکیبات علیه آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز استرپتوکوک موتانس با استفاده از داکینگ مولکولی بررسی شد.

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که ترکیبات ثانویه گیاهی اعم از فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترپنوئیدها از طریق پیوندهای

اتصال این ترکیب به آنزیم برهمکنش‌های آبریز از طریق اسید آمینه‌های Leu434, Asp588, Tyr916, His587 Gln192 همچنین اسد آمینه‌های موثر بودند. همچنین با این ترکیب پیوند هیدروژنی داشت. در مقایسه با داروهای استانداردهای آکاربوز (۸/۸-) کیلوکری بر مول و مالتور ۱ (۶/۱-) کیلو بر مول ترکیبات ترپنوئیدی انرژی اتصال بیشتر و بنابراین سست‌تری داشتند. تصاویر زیر بر همکنش ۵ ترکیب برتر ترپنوئیدی با آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز و همین‌طور موقعیت ترکیبات در آنزیم، باندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های هیدروفوبیک و اسید آمینه‌های درگیر را نشان می‌دهند.



شکل ۸. نمای ۲ و ۳ بعدی بعد از انجام داکینگ
Bronyl-acetate با آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز

بحث و نتیجه گیری

پوسیدگی دندان یکی از رایج‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های مرتبط با حفره دهان است که هم کودکان و هم بزرگسالان را درگیر می‌کند. استرپتوکوک موتانس اصلی‌ترین میکروارگانیسم پوسیدگی را است که در پیشرفت پوسیدگی دندان نقش دارد. گلیکوزیل ترانسفراز استرپتوکوک موتانس

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

نیمه Trp517 می‌کند، در حالی که برهمکنش با گلیکوزیل پذیرنده را مسدود کرده و اثرات را GtFC بازدارندگی آکاربوز هنگام اتصال به توضیح می‌دهد (۳۵). جالب توجه است Asp593 و Asp588، Arg475 که در اتصال دخیل بودند، به عنوان جایگاه کاتالیزوری آنزیم در نظر گرفته می‌شوند (۳۶). Arg475 به عنوان یک تثبیت کننده کلیدی ساختار بیوفیلیم شناسایی شده است، در حالی Asp593 تاثیر مهمی بر گلیکوزیل ترانسفراز دارد که این امر مسئول تولید گلوکان محلول یا نامحلول است (۳۵). تولید گلوکان سوکراز یا گلیکوزیل ترانسفراز ترشح شده توسط اس موتانس ویژگی اصلی بیماری‌زایی است که در تشکیل بیوفیلیم نقش دارد. از این رو، مهار گلوکان سوکراز در سنتز گلوکان باعث کاهش تولید پلی ساکارید و اختلال در تشکیل پلاک دندان در باکتری‌ها می‌شود. رن و همکاران (۳۷). گزارش دادند که ماتریکس پلی ساکارید سنتز شده با گلوکان چسبندگی باکتری‌های فاز اولیه را به سطوح افزایش می‌دهد. همچنین به عنوان ذخیره کربوهیدرات حیاتی عمل می‌کند و از میکروب‌ها در برابر عملکرد ضد باکتریایی محافظت می‌کند (۳۸).

بنابراین Isoginkgetin و Phenanthroindolizidin با اتصال به اسید آمینه‌های جایگاه کاتالیزوری مشابه محل اتصال آکاربوز و مالتوز می‌توانند سبب مهار گلوکان سوکراز در سنتز گلوکان و در نتیجه کاهش پلی ساکارید و اختلال در تشکیل پلاک دندان شوند.

نتیجه‌گیری

هیدروژنی و برهمکنش‌های آبگریز به آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز متصل شدند. در مقایسه با مهارکننده‌های استاندارد آنزیم گلیکوزیل WP1066 ترانسفراز شامل آکاربوز، مالتوز و ترکیبات فلاونوئیدی و آلکالوئیدها انرژی اتصال کمتر و در نتیجه اتصال قوی‌تری به آنزیم داشتند که این امر تاثیر بهتر این ترکیبات در مقایسه با مهار کننده‌های استاندارد آنزیم را نشان می‌دهد. دوترکیبی که کمترین انرژی اتصال و در نتیجه قوی‌ترین اتصال را داشتند Isoginkgetin و Phenanthroindolizidine بودند.

جستجوی مداوم برای جایگزین‌هایی غیر از عوامل آنتی بیوفیلیم فعلی به دلیل هزینه اقتصادی بالای آنتی بیوفیلیم‌های صنعتی مورد استفاده فعلی و عوارض جانبی جدی پس از مصرف طولانی مدت آن‌ها به یک تقاضای ضروری تبدیل شد (۳۳). استفاده از فرآورده‌های گیاهی کم هزینه با کمترین احتمال ایجاد عوارض جانبی عمده در مقایسه با عوامل آنتی بیوفیلیم معمولی گزینه درمانی مناسبی است. استفاده از گیاهان دارویی در کنترل بیماری‌ها به طور در طول تاریخ بشر ثبت شده است. سنتی از قسمت‌های مختلف گیاهان (برگ، ساقه، پوست، ریشه، میوه) برای درمان، پیشگیری و کنترل بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود (۳۴). در مطالعه حاضر بهترین اتصال بین آنزیم و ترکیبات ثانویه شامل برهمکنش‌های شش آمینو اسید بودند: Asp909، Asp477، Glu515، His587، . قبلاً در مطالعات قبلی Trp517 و Asp480 گزارش شده است که اتصال آکاربوز به عملکرد کاتالیزور اسید/باز را محدود Glu515

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

- With Antibacterial Activities:
A Taxonomic and
Phylogenetic Perspective.
Frontiers in Pharmacology,
2021. **11**.
4. Fujiwara, T., et al., *Molecular analyses of glucosyltransferase genes among strains of Streptococcus mutans*. FEMS Microbiology Letters, 1998. **161**(2): p. 331-336.
 5. Thean, H., M.L. Wong, and H. Koh, *The dental awareness of nursing home staff in Singapore - a pilot study*. Gerodontology, 2007. **24**(1): p. 58-63.
 6. Warreth, A., *Dental Caries and Its Management*. Int J Dent, 2023. **2023**: p. 9365845.
 7. Featherstone, J.D., *The caries balance: the basis for caries management by risk assessment*. Oral Health Prev Dent, 2004. **2 Suppl 1**: p. 259-64.
 8. Mjör, I.A. and F. Toffenetti, *Secondary caries: a literature review with case reports*. Quintessence Int, 2000. **31**(3): p. 165-79.
 9. Clarke, J.K., *On the Bacterial Factor in the Aetiology of Dental Caries*. Br J Exp Pathol. 1924 Jun;5(3):141-7.
 10. Lemos, J.A., et al., *Streptococcus mutans: a new Gram-positive paradigm?* Microbiology (Reading), 2013. **159**(Pt 3): p. 436-445.
 11. Wongsariya, K., et al., *Anti-oral streptococci and anti-biofilm properties of Etlingera pavieana essential oil and its bioactive compounds proposed for an alternative herbal mouthwash*. Heliyon, 2024. **10**(10): p. e31136.
 12. Singh, K., et al., *The copYAZ Operon Functions in Copper Efflux, Biofilm Formation, Genetic Transformation,*

استفاده از ترکیبات طبیعی در طول سالیان گذشته تا به امروز به منظور درمان بیماری‌های مختلف مورد توجه بوده‌اند. ایجاد کتابخانه‌های مجازی با استفاده از ترکیبات طبیعی به منظور توسعه داروهای جدید مورد توجه قرار گرفته‌اند. با توجه به نتایج حاصل ترکیبات گیاهی اعم از فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترپنوئیدها توانایی اتصال به گلیکوزیل ترانسفراز را دارا می‌باشند. بنابراین می‌توان از این ترکیبات به عنوان آنتی باکتریال طبیعی به منظور جلوگیری از تشکیل پلاک دندان و بیوفيلم ناشی از باکتری اس موتانس در تولید لوازم بهداشتی دهان و دندان استفاده نمود. با این حال، تحقیقات بیشتری در جهت بررسی مکانیسم تعامل لیگاند-آنزیم در سطح مولکولی و ارزیابی درمان‌ها در آزمایش‌های حیوانی یا حتی آزمایش‌های بالینی قبل از هر گونه نتیجه‌گیری مورد نیاز است.

منابع

1. Aligne, C.A., et al., *Association of Pediatric Dental Caries With Passive Smoking*. JAMA, 2003. **289**(10): p. 1258-1264.
2. Pathak, J.L., et al., *The role of oral microbiome in respiratory health and diseases*. Respir Med, 2021. **185**: p. 106475.
3. Chassagne, F., et al., *A Systematic Review of Plants*

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

20. Kamarehei, F., M. Mehdiabadi, and F. Naderi, *Antibacterial effects of natural compounds on biofilm formation of Streptococcus mutans*. Clinical and Experimental Dental Research, 2022. **8**(6): p. 1426-1433.
21. Christenhusz, M.J. and J.W. Byng, *The number of known plants species in the world and its annual increase*. Phytotaxa, 2016. **261**(3): p. 201-217-201-217.
22. Elshafie, H.S., I. Camele, and A.A. Mohamed, *A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin*. International Journal of Molecular Sciences, 2023. **24**(4): p. 3266.
23. Memelink, J., et al., *Genetic modification of plant secondary metabolite pathways using transcriptional regulators*. Plant Cells, 2001: p. 103-125.
24. Tiwari, R. and C. Rana, *Plant secondary metabolites: a review*. International Journal of Engineering Research and General Science, 2015. **3**(5): p. 661-670.
25. Compean, K., *Antimicrobial Activity of Plant Secondary Metabolites: A Review*. Research Journal of Medicinal Plant, 2014. **8**: p. 204-213.
26. Masyita, A., et al., *Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives*. Food Chem X, 2022. **13**: p. 100217.
13. Lemos, J.A., et al., *The Biology of Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr, 2019. **7**(1).
14. Bowen, W.H. and H. Koo, *Biology of Streptococcus mutans-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms*. Caries Res, 2011. **45**(1): p. 69-86.
15. Zhang, Q., et al., *Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in Streptococcus mutans*. Int J Oral Sci, 2021. **13**(1): p. 30.
16. Nijampatnam, B., et al., *Discovery of Potent Inhibitors of Streptococcus mutans Biofilm with Antivirulence Activity*. ACS Med Chem Lett, 2021. **12**(1): p. 48-55.
17. Luo, S.-C., et al., *How probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics prevent dental caries: an oral microbiota perspective*. npj Biofilms and Microbiomes, 2024. **10**(1): p. 14.
18. Wang, Y., et al., *Effect of a new mouthwash based on Tea polyphenols and chlorogenic acid on dental caries and gingivitis*. Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine, 2022. **3**: p. 100109.
19. Nijampatnam, B., et al., *Inhibition of Streptococcus mutans Biofilms by the Natural Stilbene Piceatannol Through the Inhibition of Glucosyltransferases*. ACS Omega, 2018. **3**(7): p. 8378-8385.

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۶-۵ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

36. Sánchez, L., et al., *The role of conserved arginine in the GH70 family: a computational study of the structural features and their implications on the catalytic mechanism of GTF-SI from Streptococcus mutans*. Org Biomol Chem, 2019. **17**(25): p. 6269-6276.
37. Ren, Z., et al., *Inhibition of Streptococcus mutans polysaccharide synthesis by molecules targeting glycosyltransferase activity*. J Oral Microbiol, 2016. **8**: p. 31095.
38. Koo, H., et al., *Exopolysaccharides produced by Streptococcus mutans glucosyltransferases modulate the establishment of microcolonies within multispecies biofilms*. J Bacteriol, 2010. **192**(12): p. 3024-32.
27. Varela, C., et al., *Chapter 17 - Alkaloids: Their relevance in cancer treatment*, in *New Insights Into Glioblastoma*, C. Vitorino, C. Balaña, and C. Cabral, Editors. 2023, Academic Press. p. 361-401.
28. Panche, A.N., A.D. Diwan, and S.R. Chandra, *Flavonoids: an overview*. J Nutr Sci, 2016. **5**: p. e47.
29. Jaeger-Honz, S., K. Klein, and F. Schreiber, *Systematic analysis, aggregation and visualisation of interaction fingerprints for molecular dynamics simulation data*. Journal of Cheminformatics, 2024. **16**(1): p. 28.
30. Karplus, M. and J.A. McCammon, *Molecular dynamics simulations of biomolecules*. Nature Structural Biology, 2002. **9**(9): p. 646-652.
31. Genheden, S. and U. Ryde, *The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities*. Expert Opin Drug Discov, 2015. **10**(5): p. 449-61.
32. Zayed, S.M., et al., *Biofilm formation by Streptococcus mutans and its inhibition by green tea extracts*. AMB Express, 2021. **11**(1): p. 73.
33. Qiu, W., et al., *Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries*. BioMed Research International, 2020. **2020**(1): p. 5658212.
34. Susana Oteng, M., et al., *Medicinal Plants for Treatment of Prevalent Diseases*, in *Pharmacognosy*, P. Shagufta and A.-T. Areej, Editors. 2019, IntechOpen: Rijeka. p. Ch. 9.
35. Ito, K., et al., *Crystal structure of glucansucrase from the dental caries pathogen Streptococcus mutans*. J Mol Biol, 2011. **408**(2): p. 177-86.