Journal of Metallurgical and Materials Engineering, 37, 2. 2026. (137- 156)

Ferdowsi University of Mashhad

Journal of Metallurgical and Materials Engineering

https://jmme.um.ac.ir

Iron&Steel Society of Iran

Investigation of Safranal Interaction with Influenza Neuraminidase Using Molecular Dynamics Simulation

Research Article

Maryam Bendokht [1], Sepideh Amjad-Iranagh [2]

10.22067/jmme.2026.97530.1236

Abstract

Acute respiratory diseases, including influenza, remain major global health challenges due to the increasing resistance to antiviral drugs. In this study, to investigate the interaction behavior of herbal compounds, the interactions of two saffron-derived bioactive compounds, Picrocrocin and Safranal, with influenza neuraminidase were examined using molecular dynamics simulations. All simulations were performed under physiological conditions. SASA, RDF, RMSD, gyration radius and electrostatic potentioal were done. The results of RMSD analysis indicated that picrocrocin induced pronounced structural changes in the protein. RDF analysis demonstrated that safranal remained closer to the neuraminidase surface (approximately 0.8 nm), in comparison to picrocrocin. In addition, SASA analysis showed an increased surface hydrophilicity of the protein in the presence of safranal. These findings provide molecular-level insight into the interactions of saffron-derived bioactive compounds with viral proteins. The results showed that these bioactive compounds can be effective in interacting with influenza virus and they can be used as influenza virus neuraminidase inhibitor.

Keywords: Molecular Dynamics Simulation, Herbal Compounds, Protein-Ligand Interaction, Influenza Neuraminidase, Influenza Virus

1- Introduction

Influenza A virus is still considered one of the important viral infections worldwide, mainly because of its continuous genetic changes and the emergence of resistance against common antiviral drugs [1]. Although vaccination and antiviral medications have reduced the severity of influenza infection, the effectiveness of these approaches can be limited by viral mutations, drug resistance, and the need for regular updates in treatment strategies [2]. Among the viral proteins involved in influenza infection, neuraminidase plays a key role in the release and spread of newly formed virus particles from infected host cells. For this reason, neuraminidase has long been regarded as an important target for antiviral drug development [3].

In recent years, natural compounds have received increasing attention as possible alternatives or agents in antiviral studies. These compounds are often considered valuable because of their biological activity, structural diversity, and relatively lower toxicity compared with many synthetic drugs [4,5]. Saffron (Crocus sativus L.) is one of the well-known medicinal plants that contains several bioactive compounds, including crocin, crocetin, picrocrocin, and safranal [6,7]. Previous studies have reported different biological effects for saffron-derived compounds, such as antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory, and antiviral activities. However, the molecular details of their interaction with viral proteins still need further investigation [8].

In this study, the interaction of two major saffron bioactive compounds, picrocrocin and safranal, with influenza neuraminidase was investigated using molecular dynamics simulation. The aim was to evaluate how these compounds affect the structural behavior and stability of the protein at the molecular level.

2- Materials and Methods

In this study, molecular dynamics simulations were used to investigate the interaction of saffron-derived bioactive compounds with influenza neuraminidase. Three separate systems were prepared for comparison: neuraminidase in water as the reference system, neuraminidase in the presence of picrocrocin, and neuraminidase in the presence of safranal. These systems are shown in Fig. 1. All simulations were performed using the GROMACS software package under physiological conditions. The GROMOS96 54a7 force field was applied, and the systems were solvated using the SPC water model.

* Manuscript received January 25, 2026, Revised February 23, 2026, Accepted May 23, 2026.

[1] M.Sc. Student. Department of Materials and Metallurgical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran.

[2] Assistant Professor, Department of Materials and Metallurgical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran. Iran.

Email: amjad_i_s@aut.ac.ir

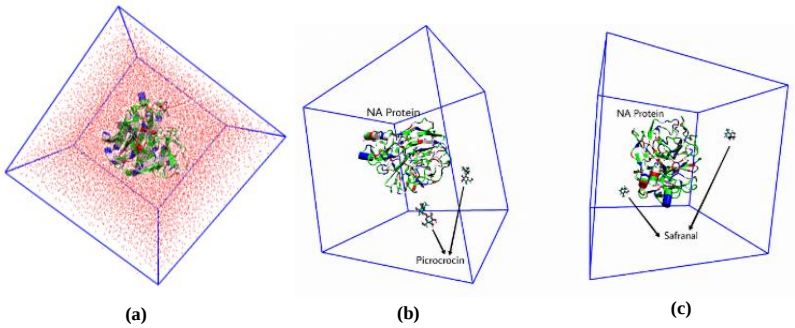


Fig 1. Simulation boxes containing (a) neuraminidase in water, (b) neuraminidase in the presence of picrocrocin, and (c) neuraminidase in the presence of safranal.

The simulation temperature was set to 310 K to represent physiological temperature. After energy minimization using the steepest descent algorithm, the systems were equilibrated under NVT and NPT ensembles. Finally, production molecular dynamics simulations were carried out for 50 ns.

3- **Results and Discussion**

To evaluate the behavior of the systems, several analyses were performed, including root-mean-square deviation (RMSD), root-mean-square fluctuation (RMSF), radial distribution function (RDF), solvent-accessible surface area (SASA), radius of gyration, electrostatic interaction energy, and hydrogen bonding. Together, these analyses were used to examine the structural changes of neuraminidase and its interaction with the saffron-derived compounds.

A. RMSD

The RMSD results, shown in Fig. 2(a), indicated that both picrocrocin and safranal affected the structural behavior of neuraminidase compared with the reference protein system. However, the changes caused by picrocrocin were more noticeable, suggesting that this compound had a stronger effect on the conformational behavior of the protein. This observation was also supported by the RMSF results, where the fluctuations of some protein regions in the presence of picrocrocin were different from those of the reference system. These findings indicate that picrocrocin can influence the local flexibility of neuraminidase more effectively than safranal.

B. RDF

The RDF analysis was used to examine the distribution of the compounds around the protein. According to the results, safranal was found at a slightly shorter distance from the protein surface, with the highest distribution observed at around 0.8 nm. Picrocrocin showed its maximum distribution at approximately 0.9 nm. This means that safranal remained closer to the protein surface during the simulation.

C. Radius of Gyration

The radius of gyration results, presented in Fig. 2(b), showed that picrocrocin caused more stable changes in the compactness of the protein structure. In the presence of picrocrocin, neuraminidase showed a more noticeable structural compaction compared with the reference system and the safranal-containing system. This behavior suggests that picrocrocin has a greater influence on the overall folding and structural arrangement of the protein.

D. SASA

The SASA analysis, shown in Fig. 2(c), indicated that safranal increased the solvent-accessible surface area of the protein, suggesting an increase in the hydrophilic character of the protein surface. In contrast, picrocrocin did not cause a remarkable change in the solvent-accessible surface area compared with the reference system. This difference can be related to the different chemical structures and interaction patterns of these two saffron compounds.

E. Electrostatic Interaction

Figure axis Electrostatic interaction analysis, presented in Fig. 2(d), revealed that the interaction between picrocrocin and neuraminidase was stronger than that of safranal. The deeper potential well observed for the picrocrocin-containing system, with an interaction energy of about −320.8 kJ/mol, indicates a stronger electrostatic interaction between this compound and the protein. Hydrogen bond analysis also supported this result. Picrocrocin formed a higher number of hydrogen bonds with neuraminidase compared with safranal. This can be explained by the chemical structure of picrocrocin, which contains more hydrogen bond donor and acceptor groups. These groups can help picrocrocin establish more stable interactions with the protein.

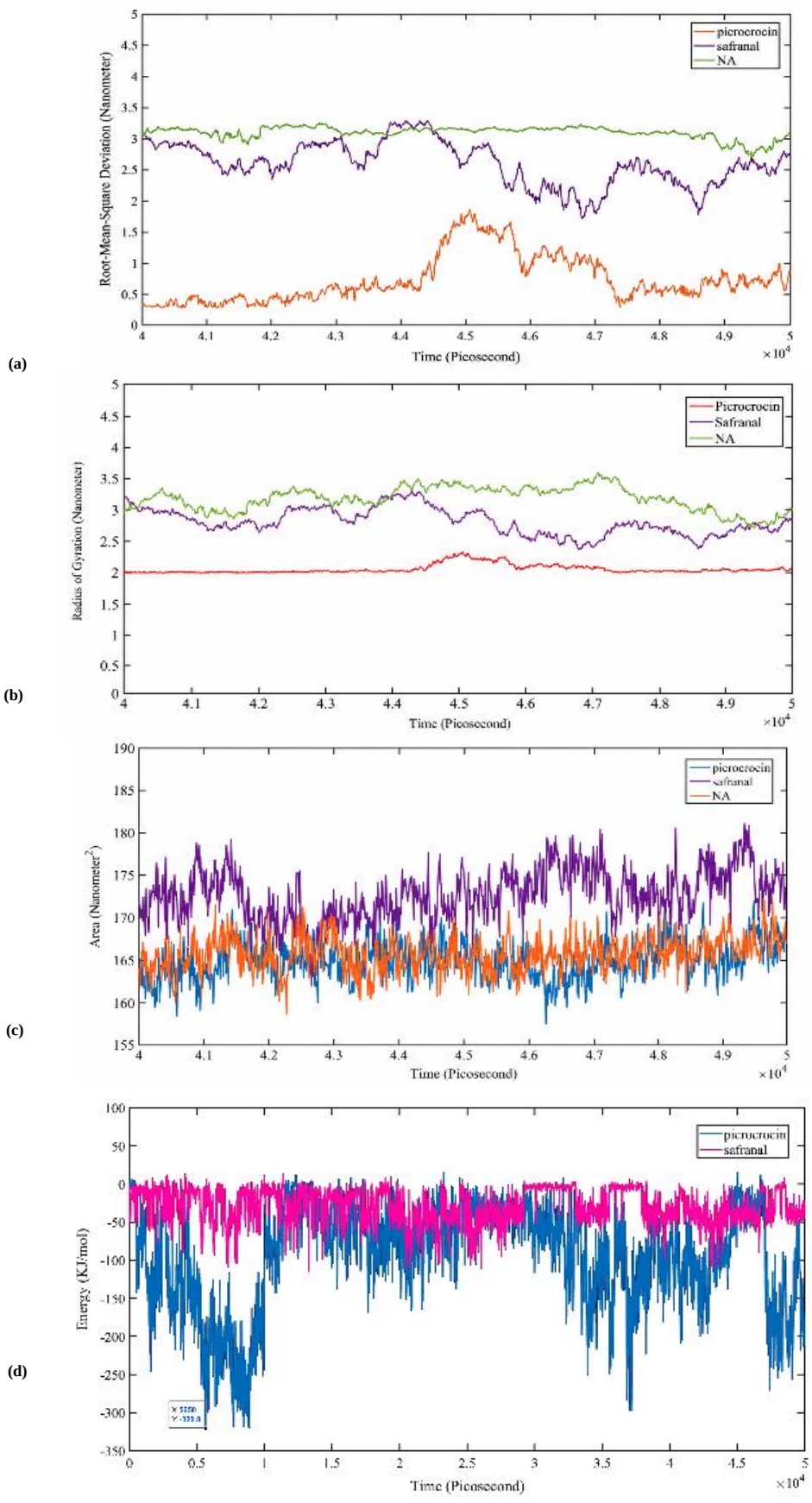


Fig 2. The (a) RMSD, (b) radius of gyration, (c) SASA, and (d) Electrostatic interaction energy analyses of examined systems.

4- Conclusion

The molecular-level interactions of two major saffron bioactive compounds, picrocrocin and safranal, with influenza neuraminidase were examined using molecular dynamics simulation. The results of this study show that both picrocrocin and safranal can interact with influenza neuraminidase and may affect its structural behavior. However, picrocrocin showed a stronger and more stable interaction with the protein based on RMSD, RMSF, radius of gyration, electrostatic interaction energy, and hydrogen bond analyses. Safranal, on the other hand, remained closer to the protein surface and increased the hydrophilicity of the protein surface, as indicated by RDF and SASA results. These findings provide useful molecular-level insight into the possible interaction of saffron-derived compounds with influenza neuraminidase. The results suggest that saffron bioactive compounds, especially picrocrocin, may have potential as natural antiviral candidates targeting neuraminidase. However, further computational and experimental studies, such as molecular docking, binding free energy calculations, and biological assays, are needed to confirm their inhibitory activity and evaluate their practical application in antiviral drug development.

5- Reference

[1] J. F. Mann, J. S. Tregoning, Y. Aldon, R. J. Shattock, and P. F. McKay, "CD71 targeting boosts immunogenicity of sublingually delivered influenza haemagglutinin antigen and protects against viral challenge in mice," *Journal of Controlled Release*, vol. 232, pp. 75-82, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.04.022

[2] V. L. Herrmann, C. Hartmayer, O. Planz, and M. Groettrup, "Cytotoxic T cell vaccination with PLGA microspheres interferes with influenza A virus replication in the lung and suppresses the infectious disease," *Journal of Controlled Release*, vol. 216, pp. 121-131, 2015. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.019

[3] X. Zhao, R. Li, Y. Zhou, M. Xiao, C. Ma, Z. Yang, S. Zeng, Q. Du, C. Yang, and H. Jiang, "Discovery of highly potent pinanamine-based inhibitors against amantadine-and oseltamivir-resistant influenza A viruses," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 61, no. 12, pp. 5187-5198, 2018. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00042

[4] W. F. Lai, and A. L. Rogach, "Hydrogel-Based Materials for Delivery of Herbal Medicines," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 9, no. 13, pp. 11309-11320, 2017. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsami.6b16120

[5] S. Parham, A. Z. Kharazi, H. R. Bakhsheshi-Rad, H. Nur, A. F. Ismail, S. Sharif, S. RamaKrishna, and F. Berto, "Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials," *Antioxidants*, vol. 9, no. 12, p. 1309, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/antiox9121309

[6] G. Marrone, S. Urciuoli, M. Di Lauro, K. Cornali, G. Montalto, C. Masci, G. Vanni, M. Tesauro, P. Vignolini, and A. Noce, "Saffron (Crocus sativus L.) and Its By-Products: Healthy Effects in Internal Medicine," *Nutrients*, vol. 16, no. 14, p. 2319, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/nu16142319

[7] M. Lautenschläger, J. Sendker, S. Hüwel, H. Galla, S. Brandt, M. Düfer, K. Riehemann, and A. Hensel, "Intestinal formation of trans-crocetin from saffron extract (Crocus sativus L.) and in vitro permeation through intestinal and blood brain barrier," *Phytomedicine*, vol. 22, no. 1, pp. 36-44, 2015. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.10.009

[8] A. Rahaman, A. Kumari, M. A. Farooq, X.-A. Zeng, S. Hassan, I. Khalifa, R. M. Aadil, M. F. Jahangir Chughtai, A. Khaliq, and N. Ahmad, "Novel extraction techniques: an effective way to retrieve the bioactive compounds from saffron (Crocus Sativus)," *Food Reviews International*, vol. 39, no. 5, pp. 2655-2683, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1967377

مهندسی متالورژی و مواد، ۳۷، ۳، ۱۴۰۵. (۱۵۶-۱۳۷)

مهندسی متالورژی و مواد

https://jmme.um.ac.ir/

انجمن آهن و فولاد ایران

بررسی برهم‌کنش مواد مؤثر عصاره زعفران با پروتئین نورآمینیداز ویروس آنفولانزا با رویکرد شبیه‌سازی دینامیک مولکولی*

مقاله پژوهشی

مریم بندخت[۱] سپیده امجد ایرانق[۲]

DOI: 10.22067/jmme.2026.97530.1236

چکیده *بیماری‌های حاد تنفسی از جمله آنفولانزا، به دلیل افزایش مقاومت به داروهای ضد ویروس، همچنان یکی از چالش‌های مهم سلامت جهانی به شمار می‌روند. در این پژوهش، به منظور بررسی رفتار ترکیبات گیاهی، برهم‌کنش دو ترکیب زیست‌فعال زعفران شامل پیکروکروسین و سافرانال با پروتئین نورآمینیداز ویروس آنفولانزا با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مطالعه شد. شبیه‌سازی‌ها در شرایط فیزیولوژیکی انجام شد. آنالیزهای RMSD، RDF، SASA، شعاع ژیراسیون و پتانسیل الکترواستاتیک انجام گردید. نتایج آنالیز RMSD نشان داد که پیکروکروسین تغییرات ساختاری در پروتئین ایجاد می‌کند. آنالیز RDF نشان داد که سافرانال در فواصل نزدیک‌تری نسبت به پیکروکروسین در اطراف پروتئین دیده می‌شود (در شعاع ۰٫۸ نانومتری). همچنین آنالیز SASA افزایش آب‌دوستی سطح پروتئین را در حضور سافرانال تأیید کرد. این یافته‌ها، بینشی در مقیاس مولکولی از برهم‌کنش ترکیبات زیست‌فعال زعفران با پروتئین‌های ویروسی فراهم می‌کنند. نتایج نشان داد که این عصاره‌ها می‌توانند در مواجه با ویروس آنفولانزا مؤثر باشند و می‌توان از آن‌ها به عنوان مهارکننده پروتئین نورامینداز ویروس آنفولانزا نام برد.*

واژه‌های کلیدی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، عصاره‌های گیاهی، برهم‌کنش پروتئین ـ لیگاند، پروتئین نورآمینیداز، ویروس آنفولانزا.

Investigation of the Interaction Between Saffron-Derived Bioactives and Influenza Virus Neuraminidase Using Molecular Dynamics Simulation

Maryam Bendokht Sepideh Amjad-Iranagh

Abstract *Acute respiratory diseases, including influenza, remain major global health challenges due to the increasing resistance to antiviral drugs. In this study, to investigate the interaction behavior of herbal compounds, the interactions of two saffron-derived bioactive compounds, Picrocrocin and Safranal, with influenza neuraminidase were examined using molecular dynamics simulations. All simulations were performed under physiological conditions. SASA, RDF, RMSD, gyration radius and electrostatic potentioal were done. The results of RMSD analysis indicated that picrocrocin induced pronounced structural changes in the protein. RDF analysis demonstrated that safranal remained closer to the neuraminidase surface (approximately 0.8 nm), in comparison to picrocrocin. In addition, SASA analysis showed an increased surface hydrophilicity of the protein in the presence of safranal. These findings provide molecular-level insight into the interactions of saffron-derived bioactive compounds with viral proteins. The results showed that these bioactive compounds can be effective in interacting with influenza virus and they can be used as influenza virus neuraminidase inhibitor.*

Keywords Molecular Dynamics Simulation, Herbal Compounds, Protein-Ligand Interaction, Influenza Neuraminidase, Influenza Virus.

* تاریخ دریافت مقاله ۱۴۰۴/۱۱/۵ و تاریخ اصلاح مقاله ۱۴۰۴/۱۲/۴ تاریخ پذیرش آن ۱۴۰۵/۳/۲ می‌باشد.

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران.

(۲) نویسندهٔ مسئول، استادیار، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران.

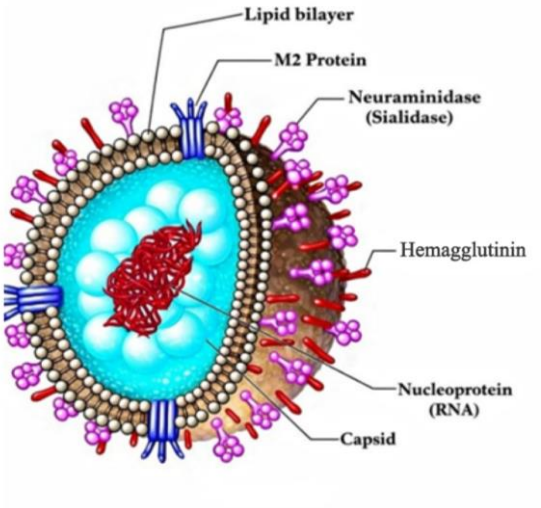
Email: Amjad_i_s@aut.ac.ir

مقدمه

ویروس آنفولانزای A (Influenza A Virus) (IAV) همچنان یکی از چالش‌های عمده سلامت جهانی محسوب می‌شود و سالانه حدود ۵ تا ۱۵ درصد از جمعیت جهان را آلوده می‌کند و موجب صدها هزار مرگ و میر در سراسر دنیا می‌گردد [1,2]. واکسیناسیون نقش کلیدی در پیشگیری از آنفولانزا ایفا می‌کند؛ با این حال، تغییرات مداوم در سویه‌های ویروسی، اثربخشی بلندمدت آن را کاهش می‌دهد و نیازمند به‌روزرسانی‌های منظم است [3]. داروهای مورد استفاده برای درمان آنفولانزا شامل داروهایی هستند که با مهار بخش‌هایی از ویروس، از تکثیر آن جلوگیری می‌کنند. این داروها شامل مهارکننده‌های کانال یونی M2 مانند آمانتادین (Amantadine) و ریمانتادین (Rimantadine) و همچنین مهارکننده‌های نورآمینیداز (Neuraminidase) مانند ازلتامیویر (Oseltamivir)، زانامیویر (Zanamivir) و پریامیویر (Peramivir) هستند. با این حال، مقاومت دارویی، فراهمی زیستی پایین و دفع سریع این داروها باعث کاهش کارایی آن‌ها شده است [4]. به همین دلیل، نیاز به روش‌های درمانی جدید که پروتئین‌های مهم ویروس مانند نورآمینیداز را هدف قرار دهند، بیش از پیش احساس می‌شود [5,6]. ساختار کلی ویروس آنفولانزای A شامل پروتئین‌های هماگلوتینین (HA) (hemagglutinin)، نورآمینیداز (NA) و کانال یونی M2 در شکل (۱) نشان داده شده است.

ویروس آنفولانزا به چهار نوع اصلی A، B، C و D طبقه‌بندی می‌شود [7]. ویروس‌های آنفولانزای A قادر به آلوده‌سازی طیف وسیع‌تری از میزبان‌های جانوری نسبت به ویروس‌های آنفولانزای B هستند که تنها انسان‌ها، فک‌ها و راسوها را مبتلا می‌کنند؛ ویروس‌های آنفولانزای C که انسان‌ها، سگ‌ها و خوک‌ها را درگیر می‌کنند و ویروس‌های آنفولانزای D که عمدتا دام‌ها را آلوده می‌سازند [8]. علاوه بر این، در ویروس‌های آنفولانزای A، هجده زیرگونه مختلف هماگلوتینین (H1–H18) و یازده زیرگونه نورآمینیداز (N1–N11) شناسایی شده است که ترکیب آن‌ها، زیرگونه ویروس آنفولانزای A را تعیین می‌کند [9].

تکثیر ویروس آنفولانزا با عملکرد پروتئین‌های سطحی آن آغاز می‌شود که نقش اصلی را در ایجاد عفونت ایفا می‌کنند. از میان این پروتئین‌ها، هماگلوتینین (HA) و نورآمینیداز (NA) اهمیت ویژه‌ای دارند. پروتئین HA با اتصال به اسید سیالیک موجود روی سطح سلول‌های میزبان، موجب چسبیدن ویروس به سلول و ورود آن به داخل سلول می‌شود و بدین ترتیب فرایند عفونت آغاز می‌گردد. پس از تکثیر ویروس درون سلول، پروتئین NAبا جدا کردن اسید سیالیک، باعث می‌شود ویروس‌های جدید از سطح سلول رها شوند و بتوانند به سلول‌های دیگر حمله کنند. به طور کلی، HA مسئول آغاز عفونت از طریق اتصال ویروس به سلول میزبان است، در حالی که NA نقش کلیدی در انتشار ویروس و گسترش عفونت در بدن را ایفا می‌کند [10].



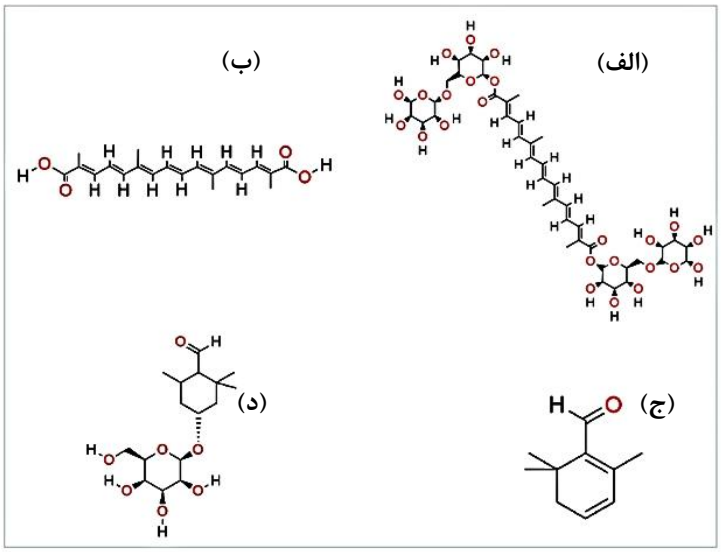
شکل ۱ نمای کلی ساختار ویروس آنفولانزای A و پروتئین‌های اصلی تشکیل‌دهنده آن، از جمله هماگلوتینین (HA)، نورآمینیداز (NA) و سایر پروتئین‌های درگیر در تکثیر و پایداری ویروس [11]

در سال‌های اخیر، ترکیبات طبیعی به عنوان گزینه‌هایی ایمن‌تر و دارای اثرگذاری چندجانبه نسبت به داروهای ضدویروسی شیمیایی مورد توجه قرار گرفته‌اند [12,13]. مطالعات نشان داده‌اند که در بسیاری از موارد، ترکیبات پیچیده موجود در داروهای گیاهی می‌توانند اثرات قوی‌تری نسبت به ترکیبات خالص و جداشده داشته باشند. یکی از مزایای مهم داروهای گیاهی، وجود مجموعه‌ای از همین ترکیبات پیچیده و مختلف است که هر کدام فعالیت خاص خود را دارند و در کنار هم می‌توانند اثر کلی بیشتری ایجاد کنند [14].

زعفران (Crocus sativus L.) که به طور گسترده در نقاط مختلف جهان کشت می‌شود، از دیرباز علاوه بر کاربردهای خوراکی، در حوزه درمان نیز مورد استفاده قرار گرفته است [15,16]. این گیاه حاوی چهار ترکیب زیست‌فعال اصلی شامل

کروسین، کروستین، پیکروکروسین و سافرانال است [17]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و ضد ویروسی هستند [18,19]. همچنین، شواهد بالینی بیانگر آن است که عصاره‌های زعفران می‌توانند با تعدیل پاسخ‌های ایمنی، به بهبود عملکرد دستگاه تنفسی کمک کنند [20]. با وجود این مزایا، محدودیت‌هایی مانند حلالیت پایین، پایداری محدود و فراهمی زیستی نامطلوب این ترکیبات، استفاده مستقیم از آن‌ها را با چالش مواجه کرده است. در چنین شرایطی، روش‌های محاسباتی می‌توانند نقش مؤثری در تحلیل برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی و تفسیر رفتار این ترکیبات در سطح مولکولی ایفا کنند. ساختار شیمیایی ترکیبات زیست‌فعال زعفران در شکل (۲) ارائه شده است و فعالیت‌های درمانی گزارش‌شده و نقش‌های حسی آن‌ها در جدول (۱) خلاصه شده است.

رویکردهای محاسباتی می‌توانند روش‌های کارآمدی در زمینه کشف دارو باشند که زمان و بودجه لازم برای بررسی و تفسیر دینامیک اتم‌ها و مولکول‌ها را کاهش می‌دهند [26]. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی (Molecular Dynamics (MD) Simulation) یکی از ابزارهای محاسباتی قدرتمند برای بررسی برهم‌کنش‌های زیست‌مولکولی در مقیاس اتمی است که به طور گسترده در پژوهش‌های زیست‌پزشکی به منظور مطالعه برهم‌کنش بین پروتئین و لیگاند و تحلیل عملکردهای مولکولی مورد استفاده قرار گرفته است [30,31]. در این روش، با استفاده از میدان‌های نیرو، می‌توان پایداری ساختاری مولکول‌ها، تغییرات شکل آن‌ها در طول زمان و میزان تمایل لیگاندها برای اتصال به پروتئین‌ها را بررسی کرد [32,33]. شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی در حوزه علوم دارویی برای پیش‌بینی نفوذپذیری مواد، بررسی پایداری سامانه‌های دارویی و درک بهتر مکانیسم‌های دارورسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند [34].



شکل ۲ ساختار شیمیایی: الف) کروسین، ب) کروستین، ج) سافرانال و د) پیکروکروسین

جدول ۱ ترکیبات زیست‌فعال اصلی زعفران و فعالیت‌های درمانی گزارش‌شده آن‌ها

ترکیب	نقش حسی در زعفران	اثرات زیستی اصلی	مراجع
کروسین	ایجاد رنگ قرمز تیره زعفران	آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد ویروسی (HIV-1، HSV-1، SARS-CoV-2، محافظت‌کننده قلب)	[15,20-26]
کروستین	مشارکت در خاصیت رنگ‌دهی زعفران	ضد دیابت، ضد سرطان، ضد ویروسی (اتصال به پروتئاز SARS-CoV-2)	[17,26,27]
پیکروکروسین	عامل ایجاد طعم تلخ زعفران	طعم تلخ، فعالیت ضد سرطانی، تعدیل پاسخ ایمنی	[17,25,28,29]
سافرانال	ایجاد عطر زعفران	ضد افسردگی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، پایداری محدود در شرایط درون‌تنی	[17,23,27]

فراتر از کاربردهای دارویی، این روش، امکان بررسی دقیق برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی و فرایندهای دینامیکی را فراهم می‌کند که دسترسی به آن‌ها از طریق روش‌های تجربی اغلب دشوار یا غیر ممکن است. از این رو، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در مقیاس اتمی به طور گسترده در سامانه‌های شیمیایی و مواد مختلف برای تحلیل روابط بین ساختار و خواص مورد استفاده قرار گرفته است [35-37]. پیشرفت‌های اخیر گزارش‌شده در حوزه شیمی مولکولی و مهندسی مواد نیز کارآمدی این روش را در تفسیر ساز و کارها، تحلیل انرژی برهم‌کنش و ارزیابی دینامیکی ساختار سامانه‌های مولکولی پیچیده نشان می‌دهد [38,39].

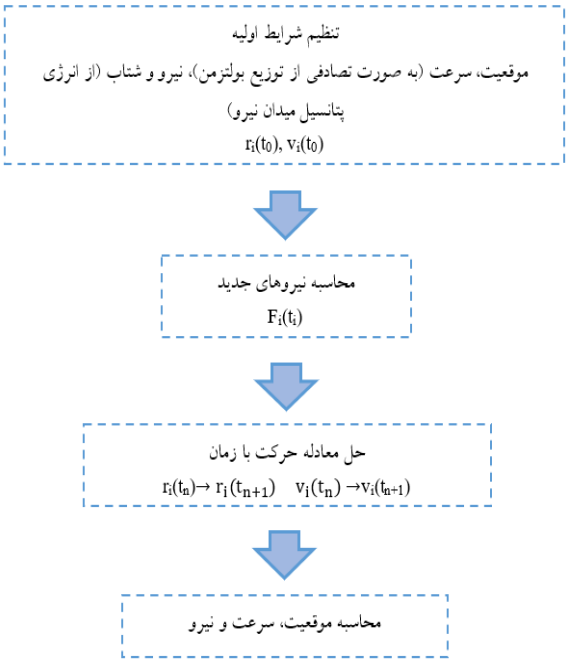
مطالعات اخیر بر نقش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به عنوان یک ابزار محاسباتی مؤثر در طراحی منطقی سامانه‌های دارویی و تحلیل مکانیسم‌های انتقال و برهم‌کنش در سامانه‌های دارورسانی تأکید دارند [40-47]. این رویکردهای محاسباتی به ویژه در بررسی ترکیبات طبیعی اهمیت دارند، زیرا امکان ارزیابی پایداری ساختاری، حلالیت و سازگاری این ترکیبات را در سامانه‌های رهش کنترل‌شده فراهم می‌کنند [53].

هر ذره بر اساس قانون دوم نیوتن یا معادله حرکت $F = ma$ (که در آن F نیروی واردشده به ذره، m جرم آن و a شتاب آن در یک میدان پتانسیل است) حرکت می‌کند. به طور کلی الگوریتم دینامیک مولکولی شامل محاسبه نیروهای وارد بر ذرات و اتم‌ها در لحظه t و محاسبه سرعت و مکان جدید آن‌ها در لحظه $t+\Delta t$ با استفاده از قانون دوم نیوتون طبق رابطه (۱) است [48].

$$\sum F = m\frac{d^2x}{dt^2} \qquad (۱)$$

الگوهای مختلفی برای انتگرال‌گیری از معادله (۱) ارائه شده است که می‌توان به لیپ‌فراگ (Verlet)، ورله (Leap-frog) و ولاسیتی‌ورله (Velocity verlet) اشاره کرد که در این پژوهش از الگوریتم ورله برای انتگرال‌گیری استفاده شده است. تفاوت این الگوها در نحوه محاسبات مکان و سرعت اتم‌ها در گام بعدی، با توجه به گام قبلی است [49]. نمای کلی مراحل انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در طرح‌واره (۱) ارائه شده است که در آن r نشان‌دهنده موقعیت، v سرعت و t زمان است.

در این پژوهش، پتانسیل دو ترکیب زیست‌فعال استخراج‌شده از زعفران شامل پیکروکروسین و سافرانال به عنوان لیگاندهای طبیعی هدف‌گیرنده پروتئین نورآمینیداز ویروس آنفولانزا با رویکردی مهندسی مورد بررسی قرار گرفته است. به منظور تحلیل رفتار برهم‌کنشی و پایداری ساختاری این ترکیبات، از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده شده است و پارامترهایی نظیر RMSD، RDF، سطح قابل دسترس حلال (SASA)، شعاع ژیراسیون و انرژی‌های برهم‌کنش مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. هدف اصلی این مطالعه، توسعه یک چهارچوب محاسباتی برای تفسیر و شناسایی برهم‌کنش‌های مولکولی در مقیاس اتمی است، به گونه‌ای که نتایج حاصل بتوانند مبنایی برای تحلیل رفتار ترکیبات طبیعی و طراحی منطقی سامانه‌های دارویی و رهایش کنترل‌شده مبتنی بر این ترکیبات فراهم کنند.



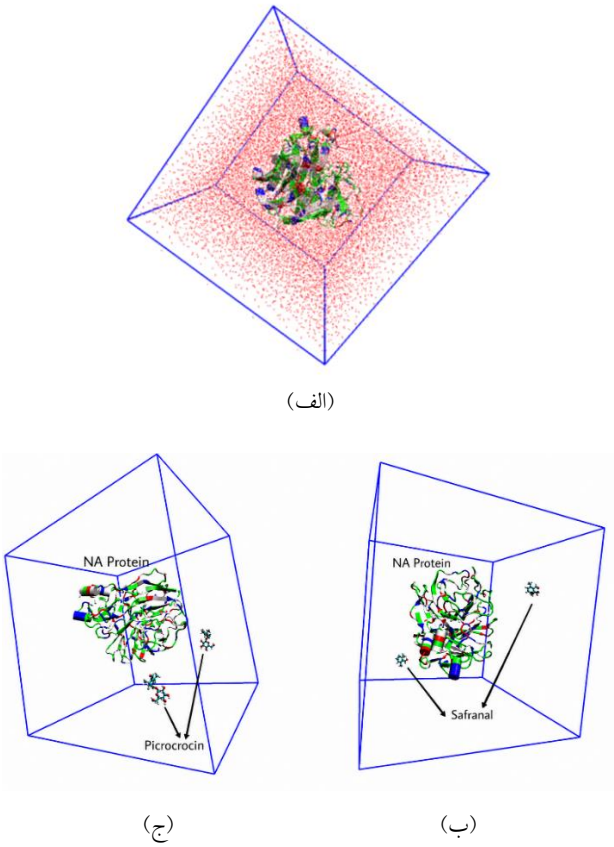
طرح‌واره ۱ تنظیم شرایط اولیه، محاسبه نیروها و به‌روزرسانی موقعیت و سرعت ذرات در طول زمان [48]

روش پژوهش

هدف این پژوهش، بررسی و تفسیر برهم‌کنش‌های پروتئین نورآمینیداز ویروس آنفولانزا در مواجهه با دو عصاره زعفران (پیکروکروسین و سافرانال)، در بستر نرم‌افزار گرومکس (Gromacs) است که این عصاره‌ها می‌توانند به عنوان یک مهارکننده فعالیت این پروتئین استفاده شوند. پروتئین نورآمینیداز که هدف این پروژه است در میان پروتئین‌های دیگر این ویروس،

نقش اساسی‌تری در بیماری و عفونت‌زایی دارد.

برای دستیابی به هدف پژوهش، سه سیستم در نظر گرفته شد و شبیه‌سازی به طور جداگانه برای آن‌ها انجام شد. سیستم اول شامل پروتئین نورآمینیداز در آب، و سیستم‌های دوم و سوم به ترتیب شامل پروتئین با دو مولکول از عصاره‌های پیکروکروسین و سافرانال هستند که تصاویر این سیستم‌ها در شکل (۳) نشان داده شده‌اند. میدان نیرو gromos96 54a7 اعمال شد، سپس درون جعبه مکعبی به ابعاد ۸٫۳۲۳۰۶ نانومتر مکعب قرار گرفت و مولکول‌های آب مدل spc برای آن‌ها انتخاب شد. دما با توجه به دمای بدن که ۳۷ درجه سلسیوس است، به مقدار ۳۱۰ کلوین ثبت شد. در ادامه برای خنثی‌سازی سیستم، دو یون سدیم به ساختار اضافه شد و برای برای انتگرال‌گیری از الگوریتم ورله و برای کمینه‌سازی انرژی از الگوریتم "steepest descent" استفاده شد.



(الف)

(ج) (ب)

شکل ۳ الف) ساختار پروتئین NA آب‌پوشی‌شده در جعبه شبیه‌سازی در زمان t = 0 پیکوثانیه، تصویر پروتئین NA با دو مولکول از عصاره‌های ب) سافرانال و ج) پیکروکروسین در جعبه شبیه‌سازی که به کمک نرم‌افزار VMD ثبت شده‌اند

به منظور رسیدن سیستم‌ها به تعادل در دما و فشار، هنگرد NVT، با انتخاب ترموستات برندسن (Brendsen) و گام زمانی ۲ فمتوثانیه انجام شد. بعد از اجرای هنگرد NVT به میزان ۵۰۰ هزار گام، تغییرات دمایی بررسی شد و میانگین دمایی حین شبیه‌سازی، ۳۱۰٫۰۲۳ کلوین بود. بعد از اجرای هنگرد NVT، هنگرد NPT به میزان ۲ میلیون و ۵۰۰ گام انجام شد. زمان شبیه‌سازی این مرحله ۵ نانوثانیه و باروستات آن پارینلو ـ رحمان (Parrinello-Rahman Barostat) انتخاب شد.

در نهایت بعد از اتمام مراحل بالا، مرحله MD روی سیستم‌ها اعمال شد؛ مرحله‌ای که اتم‌ها حرکت می‌کنند تا بتوان دینامیک مولکولی را بررسی کرد. در این مرحله، از هنگرد NPT و باروستات پارینلو ـ رحمان استفاده شده است. اجرای این مرحله بعد از ۲۵ میلیون گام به اتمام رسید. پارامترهای شبیه‌سازی سیستم‌ها به طور یکسان و متناسب با شرایط بدن تنظیم شدند تا در آخر بتوان آن‌ها را باهم مقایسه کرد و میزان برهم‌کنش‌ها را بررسی کرد.

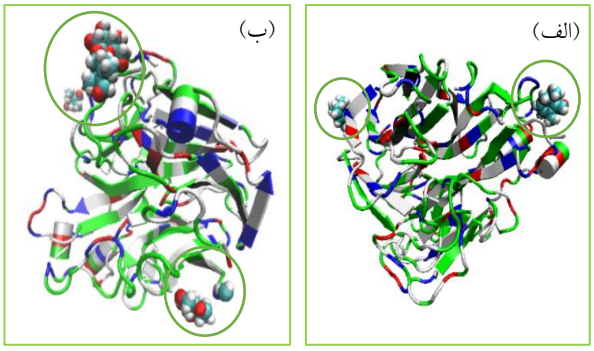
نتایج و بحث

پس از پایان شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، لازم است که مکان جذب عصاره‌ها روی پروتئین NA مشخص شود تا تعیین شود که از کدام قسمت‌های پروتئین برهم‌کنش صورت گرفته است. ساختار پروتئین و عصاره‌ها بعد از پایان مراحل شبیه‌سازی در شکل (۴) نشان داده شده‌اند. در این شکل، بخش‌های قرمز پروتئین بیانگر قسمت اسیدی، بخش‌های سفید پروتئین بیانگر قسمت غیر قطبی، بخش‌های آبی پروتئین بیانگر قسمت بازی و بخش‌های سبز پروتئین بیانگر قسمت قطبی هستند. همان طور که در شکل (۴) مشاهده می‌شود، عصاره‌ها با پروتئین اتصال داشته‌اند و این محل‌های اتصال در جدول (۲) مشخص شده‌اند.

در جدول (۲) نام‌گذاری محل‌های اتصال به این صورت است که از چپ به راست، سه حرف اول نوع آمینواسید و بعد شماره باقی‌مانده (Residue) ذکر شده است.

برای بررسی میزان اثر بخشی عصاره‌ها، آنالیزهای شعاع ژیراسیون (Rg)، سطح قابل دسترس حلال (SASA)، انحراف مربع میانگین ریشه (RMSD)، تابع توزیع شعاعی (RDF)،

پتانسیل و برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک انجام شد.



شکل ۴ تصویر محل اتصال عصاره‌های الف) سافرانال و ب) پیکروکروسین به پروتئین NA

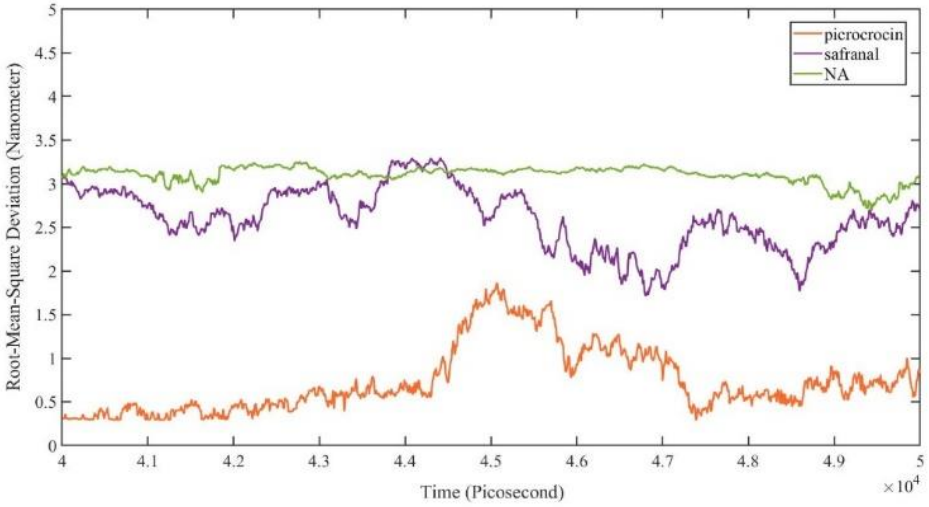
جدول ۲ مکان‌های جذب عصاره‌ها روی پروتئین NA

نام عصاره	محل اتصال به پروتئین
پیکروکروسین	GLY343 PRO342 ASN344
سافرانال	LYS143 SER409 THR117

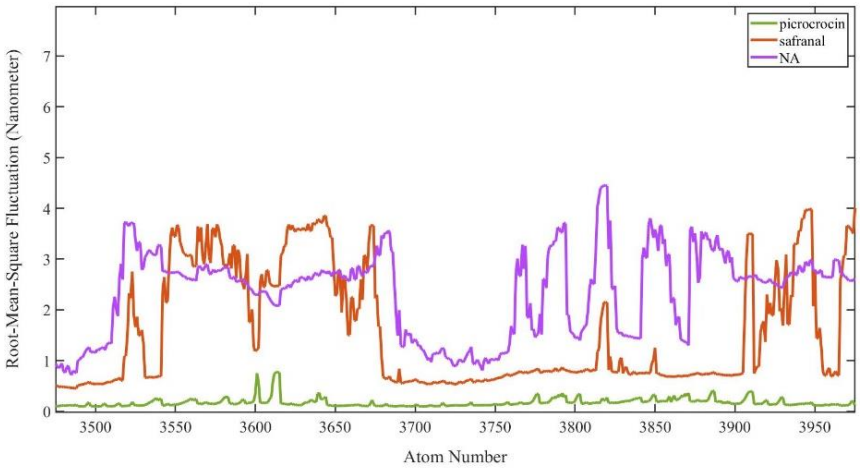
RMSD

انحراف مربع میانگین ریشه (Root-Mean-Sqaure (RMSD) Deviation) یک معیار تشابه است که به طور گسترده در تجزیه و تحلیل درشت‌مولکول‌ها استفاده می‌شود. آنالیز RMSD، نوسانات و جابه‌جایی ذرات را در بازه زمانی Δt متوسط می‌گیرد و نوسانات ساختاری نسبت به حالت مرجع سنجیده می‌شوند. معمولا در تجزیه و تحلیل مسیرهای دینامیک مولکولی برای تعیین دوره تعادل و کیفیت شبیه‌سازی‌های زیست مولکولی استفاده می‌شود [50].

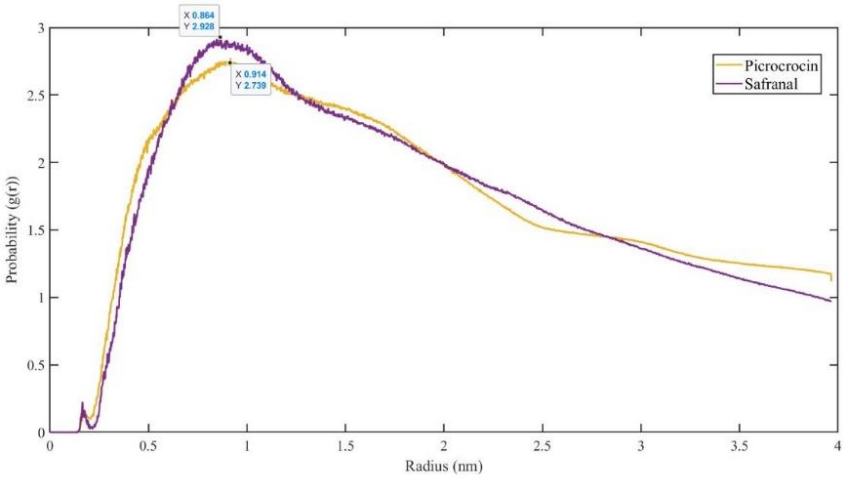
این آنالیز در بازه ۴۰ تا ۵۰ نانوثانیه آخر شبیه‌سازی گرفته شده است؛ چرا که زمان‌های اولیه، برای به تعادل رساندن اجزای سیستم به کار رفته است. این آنالیز یک مقایسه بین حالت مرجع که در اینجا سیستم اول یعنی پروتئین تنها در آب است (NA) با بقیه سیستم‌ها که جفت پروتئین ـ عصاره هستند انجام می‌دهد. با توجه به شکل (۵)، تجزیه و تحلیل RMSD برای پروتئین نورامینداز به عنوان تابعی از زمان نشان می‌دهد که سیستم‌ها پس از تقریبا ۴۹ نانوثانیه به حالت تعادل رسیده‌اند زیرا نوسانات اتم‌ها پس از یک زمان مشخص ثابت می‌شود. در مورد مقایسه بین عصاره‌ها، هرچه نوسان ساختاری پروتئین را بیشتر تغییر دهند مؤثرتر هستند؛ زیرا در بحث بیماری‌ها لازم است که شکل پروتئین عوض شود تا تأثیر دارو نمایان شود. هر دو عصاره سافرانال و پیکروکروسین تغییرات در ساختار و نوسانات پروتئین ایجاد کرده‌اند که این تغییرات برای عصاره پیکروکروسین نسبت به سافرانال بیشتر است.



شکل ۵ نمودار RMSD دو عصاره پیکروکروسین و سافرانال



شکل ۶ نمودار RMSF دو عصاره پیکروکروسین و سافرانال



شکل ۷ نمودار RDF دو عصاره پیکروکروسین و سافرانال

RMSF

آنالیز نوسان مربع میانگین ریشه (Root-Mean- (RMSF) (Square Fluctuation همانند آنالیز RMSD است، با این تفاوت که نوسانات اتم‌های مختلف پروتئین نسبت به حالت مرجع که همان پروتئین در آب است را به صورت جداگانه می‌توان ارزیابی کرد و در نهایت متوجه شد که تغییرات از چه قسمت‌هایی بیشتر اتفاق افتاده است. این آنالیز از اتم شماره ۳۵۰۰ تا اتم شماره ۴۰۰۰ گرفته شده است که نشان می‌دهد هر اتم، چه میزان جابه‌جایی بر حسب نانومتر داشته است. همان طور که در شکل (۶) مشاهده می‌شود، نوسانات اتم‌های مربوط به عصاره سافرانال تقریبا شبیه حالت مرجع (NA) است. در حالی که نوسانات مربوط به اتم‌های عصاره پیکروکروسین متفاوت از حالت مرجع است. این آنالیز، نشان‌دهنده تغییر ساختار پروتئین در مواجهه با عصاره پیکروکروسین است که در آنالیز RMSD نیز این نتیجه حاصل شد.

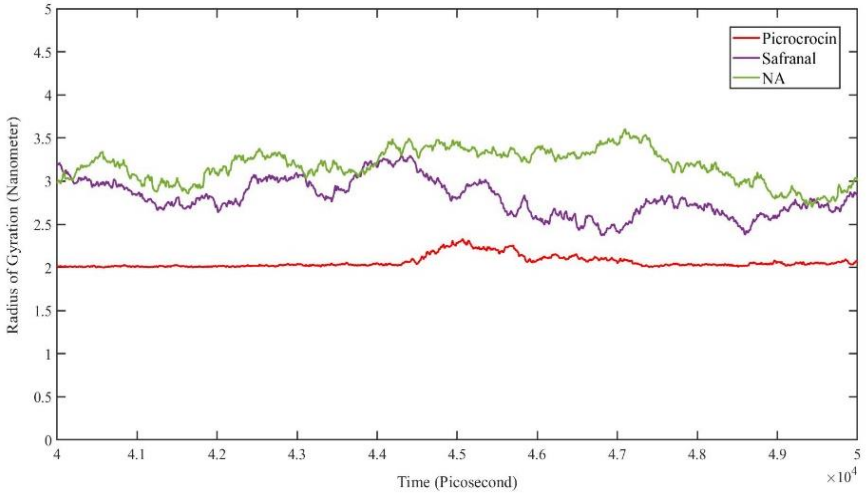
RDF

آنالیز RDF یا تابع توزیع شعاعی، احتمال پیدا کردن دو مولکول یا اتم را نسبت به هم و یا فاصله آن‌ها نسبت به هم را ارزیابی می‌کند. عملکرد آن به این صورت است که اطراف مولکول مورد نظر که آنالیز روی آن انجام می‌شود، کره‌هایی به شعاع‌های مختلف (از کم تا زیاد) ایجاد می‌کند و احتمال را محاسبه می‌کند. در مورد این پژوهش، مولکول مورد نظر پروتئین است که احتمال حضور عصاره‌ها اطراف آن سنجیده می‌شود.

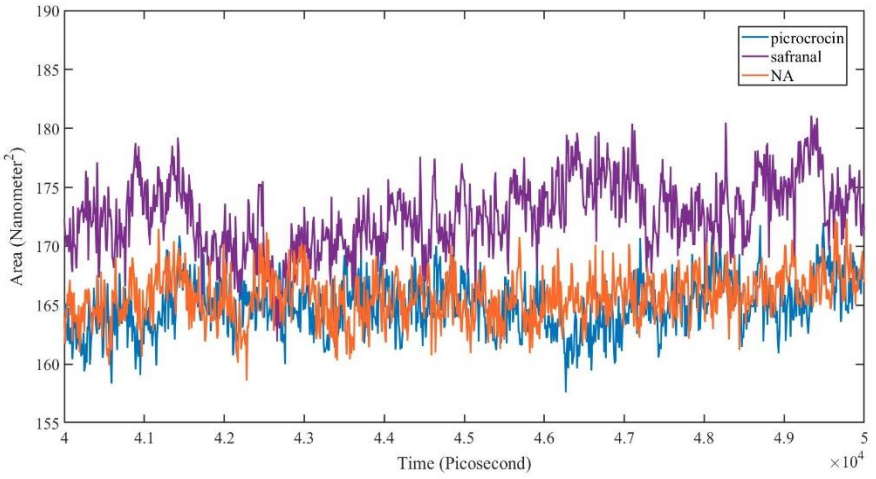
همان طور که در شکل (۷) مشاهده می‌شود عصاره سافرانال در فواصل نزدیک‌تری نسبت به پیکروکروسین در اطراف پروتئین دیده می‌شود (تقریبا در شعاع ۰٫۸ نانومتری). عصاره پیکروکروسین نیز در شعاع تقریبا ۰٫۹ نانومتری بیشترین توزیع را در اطراف پروتئین دارد. با بزرگ‌تر شدن شعاع‌های رسم‌شده توسط آنالیز، به وضوح، احتمال وجود عصاره‌ها کاهش می‌یابد و همان طور که از نمودار مشخص است این نمودارها اول به یک مقدار بیشینه و در ادامه با افزایش شعاع، کاهش می‌یابند.

شعاع ژیراسیون

شعاع ژیراسیون (Radius of Gyration) به عنوان نحوه توزیع اتم‌های یک پروتئین حول محور آن تعریف می‌شود که هر چه عصاره بتواند تغییرات بیشتری در نحوه این توزیع ایجاد کند، مؤثرتر است [51]. با توجه به منحنی پروتئین NA در شکل (۸) و مقایسه میزان تغییرات آن با دو منحنی سافرانال و پیکروکروسین، برای جفت پروتئین با عصاره پیکروکروسین، تغییرات پایداری در شعاع ژیراسیون دیده می‌شود که می‌توان ادعا کرد که پروتئین به تعادل رسیده است و شاهد تاخوردگی پایداری از این عصاره هستیم. در نتیجه، بیشترین تغییر در ساختار پروتئین توسط این عصاره حاصل شده است که شعاع پروتئین را نسبت به حالت مرجع آن تغییر داده است. به عبارتی، پروتئین کوچک شده است که نشان‌دهنده برهم‌کنش این عصاره با پروتئین است. نوسانات عصاره سافرانال به حالت مرجع نزدیک‌تر است و تغییرات کمتری روی شعاع پروتئین ایجاد کرده است.



شکل ۸ نمودار شعاع ژیراسیون دو عصاره پیکروکروسین و سافرانال



شکل ۹ نمودار SASA دو عصاره پیکروکروسین و سافرانال

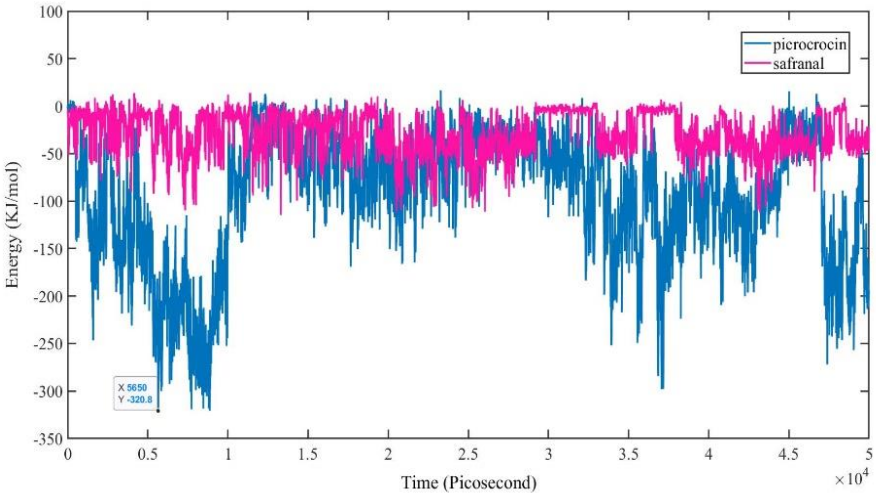
SASA

آنالیز SASA (Solvent Accessible Surface Area) توصیفی از مساحت سطح یک مولکول زیستی است که در دسترس حلال است [52]. این آنالیز همچنین اطلاعاتی در مورد آب‌دوستی ترکیب مورد مطالعه می‌دهد که در اینجا نیز حالت مرجع، پروتئین در آب (NA) است و در بازه زمانی ۴۰ تا ۵۰ نانوثانیه آخر شبیه‌سازی انجام شده است. با توجه به شکل (۹) و مقایسه با نمودار NA، عصاره سافرانال آب‌دوستی پروتئین را افزایش داده است که این نتیجه را می‌توان با افزایش سطح در دسترس حلال آبی متوجه شد. پیکروکروسین تغییر محسوسی در میزان آب‌دوستی پروتئین ایجاد نکرده است و نوساناتی همچون حالت مرجع دارد.

پتانسیل الکتروستاتیک

این آنالیز برای بررسی میزان شدت برهم‌کنش پروتئین با عصاره‌های مورد مطالعه انجام شده است [53]. با توجه به شکل (۱۰) که پتانسیل الکتروستاتیک را در طول شبیه‌سازی نشان می‌دهد، برهم‌کنش عصاره پیکروکروسین با پروتئین نسبت به سافرانال قوی‌تر است؛ زیرا چاه پتانسیل با مقدار ۳۲۰٫۸- کیلو ژول بر مول ثبت شده است که این به معنی نزدیکی مولکول‌های عصاره به پروتئین است.

در جدول (۳) تعداد پیوندهای هیدروژنی عصاره‌ها با پروتئین نشان داده شده است که میزان این پیوندها، شدت اتصال را مشخص می‌کند. همان طور که جدول (۳) نشان می‌دهد، تعداد پیوندهای هیدروژنی پیکروکروسین با پروتئین بیشتر است که مشخص می‌شود پیوند این عصاره با پروتئین قوی‌تر است که این نتیجه از پتانسیل الکتروستاتیک نیز مشخص شد. این نتیجه، از ساختار شیمیایی پیکروکروسین که در شکل (۲) نمایش داده شده است نیز قابل پیش‌بینی است. زیرا تعداد گروه‌های دهنده و گیرنده پیوند هیدروژنی در پیکروکروسین بیشتر از سافرانال است که می‌تواند دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی قوی‌تر و در نتیجه برهم‌کنش پایدارتر باشد.



شکل ۱۰ نمودار برهم‌کنش الکتروستاتیکی دو عصاره پیکروکروسین و سافرانال با پروتئین NA

جدول ۳ تعداد پیوندهای هیدروژنی عصاره‌ها با پروتئین NA

نام عصاره	تعداد پیوند هیدروژنی
پیکروکروسین	۲٫۰۱۸
سافرانال	۰٫۵۷۶

نتیجه‌گیری

در این پژوهش میزان مهار پروتئین نورآمینیداز آنفولانزا توسط عصاره‌های زعفران بررسی شد. برای این امر، سه سیستم مجزا حاوی پروتئین در آب و سیستم‌های حاوی پروتئین و عصاره‌های پیکروکروسین و سافرانال در نظر گرفته شد که مرجع همان پروتئین در آب است. آنالیز RMSD و شعاع ژیراسیون مشخص کردند که عصاره پیکروکروسین نسبت به حالت مرجع، بیشترین تغییر را در نوسانات اتم‌های پروتئین دارد و همچنین این نتیجه را می‌توان از آنالیز شعاع ژیراسیون نیز گرفت که توزیع پروتئین حول مرکز جرم خود در برهم‌کنش با این عصاره، بیشترین تغییر را داشته است. از آنالیز RDF این نتیجه حاصل شد که سافرانال در فواصل نزدیک‌تری نسبت به پروتئین حضور دارد (۰٫۸ نانومتر) و در واقع هر چه فاصله کمتر باشد، برهم‌کنش قوی‌تر است. بررسی پتانسیل الکتروستاتیک نشان داد که پروتئین در برهم‌کنش با عصاره پیکروکروسین در چاه پتانسیل عمیق‌تری فرو رفته است که به معنای انرژی برهمکنش بیشتر است. هر چه انرژی برهم‌کنش بیشتر باشد، اتصال پروتئین و عصاره قوی‌تر خواهد بود. در نهایت مشخص شد که عصاره‌های زعفران به عنوان ترکیبات گیاهی می‌توانند در مواجه با ویروس آنفولانزا مؤثر باشند و می‌توان از آن‌ها به عنوان مهارکننده پروتئین نورامینداز ویروس آنفولانزا نام برد.

واژه‌نامه

ویروس آنفولانزای A	Influenza A Virus
آمانتادین	Amantadine
ریمانتادین	Rimantadine
نورآمینیداز	Neuraminidase
ازلتامیویر	Oseltamivir
زانامیویر	Zanamivir
پریامیویر	Peramivir
هماگلوتینین	Hemagglutinin
شبیه‌سازی دینامیک مولکولی	Molecular Dynamics Simulation
گرومکس	GROMACS
لیگاند	Ligand
الگوریتم ورله	Verlet Algorithm
لیپ‌فراگ	Leap-Frog Algorithm
ولاسیتی ورله	Velocity Verlet Algorithm
ترموستات برندسن	Berendsen Thermostat
باروستات پارینلو ـ رحمان	Parrinello-Rahman Barostat
باقی‌مانده	Residue
انحراف مربع میانگین ریشه	Root-Mean-Square Deviation
نوسان مربع میانگین ریشه	Root-Mean-Square Fluctuation
شعاع ژیراسیون	Radius of Gyration
سطح قابل دسترس حلال	Solvent Accessible Surface Area

تقدیر و تشکر

مراجع

[1] J. F. Mann, J. S. Tregoning, Y. Aldon, R. J. Shattock, and P. F. McKay, "CD71 targeting boosts immunogenicity of sublingually delivered influenza haemagglutinin antigen and protects against viral challenge in mice," *Journal of Controlled Release*, vol. 232, pp. 75-82, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.04.022

[2] J. Liang, H. Guo, Y. Yang, G. Liang, Z. Chen, D. Li, H. Liang, J. Qiu, Q. Mei, S. Liu, J. Yang, and W. Wu, "Atractylenolide-Ⅲ binds non-structural protein-1 to suppress influenza A by modulating macrophage polarization and alternative polyadenylation," *Phytomedicine*, vol. 141, p. 156704, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2025.156704

[3] V. L. Herrmann, C. Hartmayer, O. Planz, and M. Groettrup, "Cytotoxic T cell vaccination with PLGA microspheres interferes with influenza A virus replication in the lung and suppresses the infectious disease," *Journal of Controlled*

Release, vol. 216, pp. 121-131, 2015. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.019

[4] X. Zhao, R. Li, Y. Zhou, M. Xiao, C. Ma, Z. Yang, S .Zeng, Q. Du, C. Yang, and H. Jiang, "Discovery of highly potent pinanamine-based inhibitors against amantadine-and oseltamivir-resistant influenza A viruses," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 61, no. 12, pp. 5187-5198, 2018. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00042

[5] D. H. Goldhill, A. J .W. Te Velthuis, R. A. Fletcher, P. Langat, M. Zambon, A. Lackenby, and W. S. Barclay, "The mechanism of resistance to favipiravir in influenza," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 115, no. 45, pp. 11613-11618, 2018. [Online]. Available: https://doi.org/10.1073/pnas.1811345115

[6] I. Leneva, E. Burtseva, S. Yatsyshina, I. Fedyakina, E. Kirillova, E. Selkova, E. Osipova, and V. Maleev, "Virus susceptibility and clinical effectiveness of anti-influenza drugs during the 2010–2011 influenza season in Russia," *International Journal of Infectious Diseases*, vol. 43, pp. 77-84, 2016. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.01.001

[7] H.-J. Kang, J. Li, M. A. Razzak, G.-D. Eom, K.-W. Yoon, J. Mao, K.-B. Chu, H. Jin, S. S. Choi, and F.-S. Quan, "Chitosan-alginate polymeric nanocomposites as a potential oral vaccine carrier against influenza virus infection," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 15, no. 44, pp. 50889-50897, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsami.3c11756

[8] L. K. Borkenhagen, M. D. Salman, M.-J. Ma, and G. C. Gray, "Animal influenza virus infections in humans: A commentary," *International Journal of Infectious Diseases*, vol. 88, pp. 113-119, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.08.002

[9] R. Duraes-Carvalho, and M. Salemi, "In-depth phylodynamics, evolutionary analysis and in silico predictions of universal epitopes of Influenza A subtypes and Influenza B viruses," *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 121, pp. 174-182, 2018. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.01.008

[10] N. C. Wu, and I. A. Wilson, "Influenza hemagglutinin structures and antibody recognition," *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, vol. 10, no. 8, p. a038778, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038778

[11] N. Singh, N. Anjum, and R. Chandra, "Combating influenza: natural products as neuraminidase inhibitors," *Phytochemistry Reviews*, vol. 18 ,no. 1, pp. 69-107, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1007/s11101-018-9581-1

[12] W. F. Lai, and A. L. Rogach, "Hydrogel-Based Materials for Delivery of Herbal Medicines," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 9, no. 13, pp. 11309-11320, 2017. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsami.6b16120

[13] S. Parham, A. Z. Kharazi, H. R. Bakhsheshi-Rad, H. Nur, A. F. Ismail, S. Sharif, S. RamaKrishna, and F. Berto, "Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials," *Antioxidants*, vol. 9, no. 12, p. 1309, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/antiox9121309

[14] F. Carmona, and A. M. S. Pereira, "Herbal medicines: old and new concepts, truths and misunderstandings," *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 23, no. 2, pp. 379-385, 2013. [Online]. Available: https://doi.org/10.1590/S0102-

695X2013005000018

[15] G. Marrone, S. Urciuoli, M. Di Lauro, K. Cornali, G. Montalto, C .Masci, G. Vanni, M. Tesauro, P. Vignolini, and A. Noce, "Saffron (Crocus sativus L.) and Its By-Products: Healthy Effects in Internal Medicine," *Nutrients*, vol. 16, no. 14, p. 2319, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/nu16142319

[16] M. Lautenschläger, J. Sendker, S. Hüwel, H. Galla, S. Brandt, M. Düfer, K. Riehemann, and A. Hensel, "Intestinal formation of trans-crocetin from saffron extract (Crocus sativus L.) and in vitro permeation through intestinal and blood brain barrier," *Phytomedicine*, vol. 22, no. 1 ,pp. 36-44, 2015. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.10.009

[17] A. Rahaman, A. Kumari, M. A. Farooq, X.-A. Zeng, S. Hassan, I. Khalifa, R. M. Aadil, M. F. Jahangir Chughtai, A. Khaliq, and N. Ahmad, "Novel extraction techniques: an effective way to retrieve the bioactive compounds from saffron (Crocus Sativus)," *Food Reviews International*, vol. 39, no. 5, pp. 2655-2683, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1967377

[18] S. Abdian, S. Fakhri, S. Z. Moradi, M. R. Khirehgesh, and J. Echeverria, "Saffron and its major constituents against neurodegenerative diseases: A mechanistic review," *Phytomedicine*, vol. 135, p. 156097, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.156097

[19] A. T. Hariri, S. A. Moallem, M. Mahmoudi, and H. Hosseinzadeh, "The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats," *Phytomedicine*, vol. 18, no. 6, pp. 499-504, 2011. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.10.001

[20] V. B. Rahim ,M. T. Khammar, H. Rakhshandeh, A. Samzadeh-Kermani, A. Hosseini, and V. R. Askari, "Crocin protects cardiomyocytes against LPS-Induced inflammation," *Pharmacological Reports*, vol. 71, no. 6, pp. 1228-1234, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.07.007

[21] F. Anaeigoudari, A. Anaeigoudari, and A. Kheirkhah-Vakilabad, "A review of therapeutic impacts of saffron (Crocus sativus L.) and its constituents," *Physiological Reports*, vol. 11, no. 15, p. e15785, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.14814/phy2.15785

[22] S. Kianbakht, and A. Ghazavi, "Immunomodulatory effects of saffron: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial," *Phytotherapy Research*, vol. 25, no. 12, pp. 1801-1805, 2011. [Online]. Available: https://doi.org/10.1002/ptr.3484

[23] H. R. Xiong, Y. Y. Shen, L. Lu, W. Hou, F. Luo, H. Xiao, and Z. Q. Yang, "The inhibitory effect of Rheum palmatum against coxsackievirus B3 in vitro and in vivo," *The American Journal of Chinese Medicine*, vol. 40, no. 4, pp. 801-812, 2012. [Online]. Available: https://doi.org/10.1142/S0192415X12500607

[24] S. A. Hosseini, M. Zilaee, M. H. Shoushtari, and M. Ghasemi Dehcheshmeh, "An evaluation of the effect of saffron supplementation on the antibody titer to heat-shock protein (HSP) 70, hsCRP and spirometry test in patients with mild and moderate persistent allergic asthma: A triple-blind, randomized placebo-controlled trial," *Respiratory Medicine*, vol. 145 ,pp. 28-34, 2018. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.rmed.2018.10.016

[25] S. Soleymani, R. Zabihollahi, S. Shahbazi, and A. Bolhassani, "Antiviral Effects of Saffron and its Major Ingredients," *Current Drug Delivery*, vol. 15, no. 5, pp. 698-704, 2018. [Online]. Available:

https://doi.org/10.2174/1567201814666171129210654

[26] A. Kordzadeh, A. R. Saadatabadi, and A. Hadi, "Investigation on penetration of saffron components through lipid bilayer bound to spike protein of SARS-CoV-2 using steered molecular dynamics simulation," *Heliyon* ,vol. 6, no. 12, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05681

[27] S. Bastani, V. Vahedian, M. Rashidi, A. Mir, S. Mirzaei, I. Alipourfard, F. Pouremamali, H. Nejabati, J. Kadkhoda, N. F. Maroufi, and M. Akbarzadeh, "An evaluation on potential anti-oxidant and anti-inflammatory effects of Crocin," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 153, p. 113297, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113297

[28] M. Carmona, A. Zalacain, A. M. Sanchez, J. L. Novella, and G. L. Alonso, "Crocetin esters, picrocrocin and its related compounds present in Crocus sativus stigmas and Gardenia jasminoides fruits. Tentative identification of seven new compounds by LC-ESI-MS," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 3, pp. 973-979, 2006. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/jf052297w

[29] M. Kabiri ,H. Rezadoost, and A. Ghassempour, "A comparative quality study of saffron constituents through HPLC and HPTLC methods followed by isolation of crocins and picrocrocin," *LWT*, vol. 84, pp. 1-9, 2017. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.033

[30] F. Wang, and V. Vasilyev, "In silico tuning of binding selectivity for new SARS-CoV-2 main protease inhibitors," *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 262, p. 108678, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2025.108678

[31] K. Al-Khafaji, and T. T. Tok" ,Molecular dynamics simulation, free energy landscape and binding free energy computations in exploration the anti-invasive activity of amygdalin against metastasis," *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 195, p. 105660, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2020.105660

[32] N. Kalam, R. Ali, and V. R. Balasubramaniam, "Exploring the potential of direct-acting antivirals against Chikungunya virus through structure-based drug repositioning and molecular dynamic simulations," *Computers in Biology and Medicine*, vol. 189, p. 109989, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2025.109989

[33] P. C. Pal, and B. Das, "Targeting the dengue virus NS5-Methyltransferase SAM binding site with limonoids: Molecular docking, dynamics simulation, DFT and ADMET analysis," *Computers in Biology and Medicine* ,vol. 196, p. 110784, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2025.110784

[34] M. Lundborg, C. L. Wennberg, A. Narangifard, E. Lindahl, and L. Norlén, "Predicting drug permeability through skin using molecular dynamics simulation," *Journal of Controlled Release*, vol. 283, pp. 269-279, 2018. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.026

[35] F. Wang, S. Zhang, K. Liu, H. Zhang, and Y. Gao, "Investigation of the mechanism of inter-material interactions of exothermic compounds based on experimental and molecular dynamics simulations," *Materials Today Chemistry*, vol. 46, p. 102742, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2025.102742

[36] C. Pu, F. Liu, H. Xu, G. Chen, G. Tian, S. Qi, and D. Wu, "Molecular dynamics study on the mechanism of poly

(amic acid) chemical structure on thermal imidization process and polyimide architecture," *Materials Today Chemistry*, vol. 33, p. 101679, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2023.101679

[37] S. Xu, D. Lin, R. Li, J. Zhan, G. Tian, and D. Wu, "Effect of chemical structures and environmental factors on the thermal degradation mechanism of polyimide: Experiments and molecular dynamics simulations," *Materials Today Chemistry*, vol. 40, p. 102242, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2024.102242

[38] N. Pouyanfar, N. Masoumi, M. Ahmadi, S. M. Ayyoubzadeh, G. Farnam, E .Asadian, F. Sefat, F. H. Shirazi, and F. Ghorbani-Bidkorpeh, "Comparison of laboratory-acquired ZIF-8 drug delivery-related parameters with literature-based data via machine learning tools," *Materials Today Chemistry*, vol. 47, p. 102801, 2025. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2025.102801

[39] M. Wu, Y. Zhang, J. Jiang, X. Wang, C. Wang, Q. Wang, and L. Cao, "Synthesis and molecular dynamics simulation of biobased "bottle-brush" polyfarnesene via aqueous radical polymerization," *Materials Today Chemistry*, vol. 38, p. 102053, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2024.102053

[40] A. Kordzadeh, M. Zarif, and S. Amjad-Iranagh, "Molecular dynamics insight of interaction between the functionalized-carbon nanotube and cancerous cell membrane in doxorubicin delivery," *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 230, p. 107332, 2023. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2022.107332

[41] T. Arabian, S. Amjad-Iranagh, and R. Halladj, "Molecular dynamics simulation study of doxorubicin adsorption on functionalized carbon nanotubes with folic acid and tryptophan," *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, p. 24210, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1038/s41598-021-03619-8

[42] P. K. Marvi, S. Amjad-Iranagh, and R. Halladj, "Molecular Dynamics Assessment of Doxorubicin Adsorption on Surface-Modified Boron Nitride Nanotubes (BNNTs)," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 125, no. 48, pp. 13168-13180, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.1c07052

[43] S. Kavyani, S. Amjad-Iranagh, and M. Zarif, "Effect of temperature, pH, and terminal groups on structural properties of carbon nanotube-dendrimer composites: A coarse-grained molecular dynamics simulation study," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 363, p. 119825, 2022. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119825

[44] A. Kordzadeh, S. Amjad-Iranagh, M. Zarif, and H. Modarress, "Adsorption and encapsulation of the drug doxorubicin on covalent functionalized carbon nanotubes: A scrutinized study by using molecular dynamics simulation and quantum mechanics calculation," *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 88, pp. 11-22, 2019. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2018.12.009

[45] F. Z. Y. Bettadj, W. Benchouk, and A. Guendouzi, "Computational exploration of novel ketoprofen derivatives: Molecular dynamics simulations and MM-PBSA calculations for COX-2 inhibition as promising anti-inflammatory drugs," *Computers in Biology and Medicine*, vol. 183, p. 109203, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2024.109203

[46] R. Maleki, H. H. Afrouzi, M. Hosseini, D. Toghraie, and S. Rostami, "Molecular dynamics simulation of Doxorubicin loading with N-isopropyl acrylamide carbon nanotube in a drug delivery system," *Computer Methods*

and Programs in Biomedicine, vol. 184, p. 105303, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2019.105303

[47] Z. Hasanzade, and H. Raissi, "Molecular mechanism for the encapsulation of the Doxorubicin in the cucurbit [n] urils cavity and the effects of diameter, protonation on loading and releasing of the anticancer drug: Mixed quantum mechanical/molecular dynamics simulations," *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 196, p. 105563, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2020.105563

[48] O. M. Salo-Ahen, I. Alanko, R. Bhadane, A. M. Bonvin, R. V. Honorato, S. Hossain, A. H. Juffer, A. Kabedev, M. Lahtela-Kakkonen, and A. S. Larsen, "Molecular dynamics simulations in drug discovery and pharmaceutical development," *Processes*, vol. 9, no. 1, p. 71, 2020. [Online]. Available: https://doi.org/10.3390/pr9010071

[49] R. J. Sadus, *Molecular simulation of fluids*: Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2002. [Online].

[50] K. Sargsyan, C. Grauffel, and C. Lim, "How molecular size impacts RMSD applications in molecular dynamics simulations," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 13, no. 4, pp. 1518-1524, 2017. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00028

[51] P. Liu, J. Lu, H. Yu, N. Ren, F. E. Lockwood, and Q. J. Wang, "Lubricant shear thinning behavior correlated with variation of radius of gyration via molecular dynamics simulations," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 147, no. 8, p. 084501, 2017. [Online]. Available: https://doi.org/10.1063/1.4986552

[52] Z. Qu, and Y. Sun, "Computer-Aided Site-Specific PEGylation of PET Hydrolases for Enhanced PET Degradation," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 16, no. 41, pp. 55463-55477, 2024. [Online]. Available: https://doi.org/10.1021/acsami.4c12187

[53] P. Politzer, and J. S. Murray, "Molecular electrostatic potentials: significance and applications," *Chemical reactivity in confined systems: theory, modelling and applications*, Hoboken, NJ, USA: Wiley, pp. 113-134, 2021. [Online]. Available: https://doi.org/10.1002/9781119683353.ch7