

Exploring the Multifaceted Benefits of α -Zingiberene in Rheumatic Arthritis: From ADMET Profiling to Molecular Docking and Therapeutic Effects on Microbial Triggers, Inflammation, Sulfatase-2, and CCN Proteins

Ruizhen WANG *

Department of Rheumatology and Immunology, Inner Mongolia Baogang Hospital,
20 Shaoxian Road, Baotou, Inner Mongolia, 014010, China.

SUMMARY. Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, inflammatory, and systemic autoimmune disease that mostly affects the joints and has varying degrees of severity depending on the individual affected. Therefore, keeping in view the severity of RA and biological potential of α -zingiberene, this study was designed to monitor anti-RA effects of α -zingiberene alongside monitoring its effects on microorganisms which trigger RA, cytotoxic analysis against the RA cell line, molecular docking against key proteins and ADMET analysis for different pharmacophore properties. α -Zingiberene was tested using disc-diffusion and microdilution methods for antimicrobial effects, MTT assay for cytotoxic analysis and ROS generations were monitored with DCFH-DA assay. The anti-RA effects were monitored with protein denaturation using bovine serum albumin (BSA) assay and inhibition of protein denaturation using egg albumin assay. Molecular docking studies were performed with the key proteins involved in RA including IFN- γ , TNF- α , sulfatase-2, CYR61/CCN1, CTGF/CCN2, NOV/CCN3 and WISP1/CCN4) using Dockthor and visualisation in BIOVIA Discovery Studio Visualizer. ADMET analysis was performed with Swiss-ADME. Results revealed significant inhibitory effects on the growth of *Porphyromonas gingivalis*, followed by *Proteus mirabilis* and *Streptococcus pyogenes*. The growth of synovial cell cultures was significantly retarded by the addition of α -zingiberene and also ROS species increased dramatically in parallel to increased α -Zingiberene concentrations. Both the protein denaturation assays also revealed high anti-RA effects for α -Zingiberene. The molecular docking studies revealed significant affinity of α -Zingiberene with the key proteins selected as targets. ADMET analysis showed high drug-likeness of the selected molecule. Therefore, our study evaluated both computational and *in-vitro* anti-RA effects of α -Zingiberene and revealed its high potency against RA.

RESUMEN. La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune crónica, inflamatoria y sistémica que afecta principalmente a las articulaciones y tiene diversos grados de gravedad según el individuo afectado. Por lo tanto, teniendo en cuenta la gravedad de la AR y el potencial biológico del α -zingibereno, este estudio fue diseñado para monitorear los efectos anti-AR del α -zingibereno junto con el monitoreo de sus efectos sobre los microorganismos que desencadenan la AR, el análisis citotóxico contra la línea celular de la AR, el análisis molecular acoplamiento contra proteínas clave y análisis ADMET para diferentes propiedades farmacóforas. El α -zingibereno se probó utilizando métodos de microdilución y difusión en disco para determinar los efectos antimicrobianos, el ensayo MTT para el análisis citotóxico y las generaciones de ROS se monitorearon con el ensayo DCFH-DA. Los efectos anti-AR se monitorearon con desnaturalización de proteínas usando el ensayo de albúmina de suero bovino (BSA) e inhibición de la desnaturalización de proteínas usando el ensayo de albúmina de huevo. Se realizaron estudios de acoplamiento molecular con las proteínas clave involucradas en la AR, incluidas IFN- γ , TNF- α , sulfatasa-2, CYR61/CCN1, CTGF/CCN2, NOV/CCN3 y WISP1/CCN4) utilizando Dockthor y visualización en BIOVIA Discovery Studio Visualizer. El análisis ADMET se realizó con Swiss-ADME. Los resultados revelaron efectos inhibitorios significativos sobre el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, seguida de *Proteus mirabilis* y *Streptococcus pyogenes*. El crecimiento de los cultivos de células sinoviales se retrasó significativamente por la adición de α -zingibereno y también las especies de ROS aumentaron dramáticamente en paralelo al aumento de las concentraciones de α -zingibereno. Ambos ensayos de desnaturalización de proteínas también revelaron efectos anti-RA elevados para el α -zingibereno. Los estudios de acoplamiento molecular revelaron una afinidad significativa del α -zingibereno con las proteínas clave seleccionadas como objetivos. El análisis ADMET mostró una alta semejanza con el fármaco de la molécula seleccionada. Por lo tanto, nuestro estudio evaluó los efectos anti-RA tanto computacionales como *in vitro* del α -zingibereno y reveló su alta potencia contra la AR.

KEY WORDS: drug-likeness, molecular docking, protein denaturation, rheumatic arthritis, toxicity profile, α -zingiberene.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: ruizhenwang821@gmail.com