

Sàng lọc *in silico* các chất ức chế M^{pro} ở SAR-CoV-2 từ quả cà đại hoa trắng *Solanum torvum* Sw. Solanaceae

Phan Thiên Vy¹, Nguyễn Vũ Thụy Vy¹, Lư Bích Ngọc Giàu²

¹Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Phòng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành
ptvy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Các biến thể SARS-CoV-2 mới làm gia tăng tình trạng lây nhiễm, đồng thời làm giảm hiệu quả của vaccine và thuốc điều trị. Quả *Solanum torvum* được chứng minh có tiềm năng kháng virus. Sàng lọc ảo nhằm tìm kiếm các hợp chất kháng SARS-CoV-2 từ quả *S. torvum* là con đường hiệu quả giúp tiết kiệm thời gian và chi phí. 91 chất đã được công bố có trong quả *S. torvum* được tiến hành docking trên protease chính M^{pro} (6LU7). 5 chất có điểm số docking tốt nhất là quercetin, torvanol A, rutin, acid chlorogenic và acid 4-O-caffeoyl quinic. Mô phỏng động lực học phân tử (MD) trong 50 ns cho thấy quercetin và acid chlorogenic có khả năng gắn kết tốt vào M^{pro} (DG_{bind} là -18,02 và -16,51 kcal/mol, tương ứng). Đánh giá ADMET cho thấy hai chất này ít độc tính và thích hợp dùng đường uống. Mô hình docking phân tử và mô phỏng MD đã xây dựng có khả năng sàng lọc tốt các chất ức chế M^{pro}, phù hợp với các nghiên cứu trước đây và có thể ứng dụng trong sàng lọc các hợp chất tự nhiên.

Nhận 15/06/2023
Được duyệt 24/07/2023
Công bố 12/09/2023

Từ khóa
SARS-CoV-2, docking,
MD, ADMET,
sàng lọc ảo, *S. torvum*

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Từ khi bắt đầu xuất hiện tại Vũ Hán, Trung Quốc vào cuối năm 2019, đến nay dịch bệnh COVID do virus SARS-CoV-2 đã gây ra hơn 766 triệu ca nhiễm và 6,9 triệu trường hợp tử vong trên toàn thế giới [1]. Mặc dù đã có một số vaccine, thuốc kháng virus và kháng thể đơn dòng được Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ phê duyệt sử dụng trong phòng ngừa và điều trị COVID. Nhưng sự xuất hiện của các biến thể SARS-CoV-2 đã làm gia tăng tình trạng lây nhiễm, thay đổi tính chất của bệnh, tránh né đáp ứng miễn dịch do tiêm chủng và làm giảm hiệu quả của thuốc [2]. Vì vậy, việc tìm kiếm hợp chất kháng virus SARS-CoV-2 rất cần được quan tâm.

Thiết kế thuốc với sự hỗ trợ của máy tính (Computer aided drug design - CADD) là một phương pháp giúp

rút ngắn thời gian và giảm chi phí của quá trình tìm kiếm thuốc mới [3]. CADD được ứng dụng thành công trong một số nghiên cứu khám phá chất ức chế protein chính (M^{pro}) của SAR-CoV-2 từ các hợp chất tự nhiên được tiến hành docking và MD ở 20 ns 4 hợp chất chính trong cây Xuyên tâm liên trên ba đích tác động là M^{pro}, papain-like protease PL^{pro}, và RNA polymerase phụ thuộc RNA (RdRp) của SARS-CoV-2. Kết quả nghiên cứu cho thấy neoandrographolid là hợp chất tiềm năng trong điều trị COVID-19 [4]. Nghiên cứu sàng lọc các hợp chất có trong các loại gia vị của Ấn Độ nhằm tìm kiếm các chất ức chế M^{pro} của SARS-CoV-2. Các hợp chất được thu thập từ cơ sở dữ liệu Pubchem và ZINC, tiến hành docking trên đích tác động M^{pro} và những chất tốt nhất được mô phỏng động lực học phân tử (MD) ở 50 ns. Kết quả tìm thấy carnosol, arjunglucosid-I và rosmanol là những hợp



chất tiềm năng có tác dụng ức chế virus SARS-CoV-2 [5]. Trong nghiên cứu khác, tiến hành sàng lọc *in silico* trên các hợp chất có trong cây *Onosma bracteata* Wall nhằm tìm kiếm các chất ức chế SARS-CoV-2. Kết quả docking và MD trong 20 ns, cho thấy, pulmonariosid C có ái lực gắn kết tốt trên ba đích tác động RdRp, M^{pro} và glycoprotein gai hơn so với các thuốc kháng virus hiện có [6].

Để theo kịp sự xuất hiện các biến thể SARS-CoV-2, CADD là công cụ hiệu quả được dùng để sàng lọc và dự đoán hoạt tính của các hợp chất từ cơ sở dữ liệu sẵn có trên các đích tác động của virus. Cơ sở dữ liệu này có thể là những thuốc đã được FDA phê duyệt trước đó với độ an toàn và tác dụng phụ đã biết hoặc các hợp chất phân lập từ dược liệu.

Cà đại hoa trắng *Solanum torvum* (*S. torvum*) là loài thực vật mọc hoang, phân bố nhiều ở các khu vực tỉnh Tây Ninh, Việt Nam được chứng minh có tác dụng kháng virus, chống ung thư, lợi tiểu, chống viêm, chống cúm, ..., được sử dụng nhiều trong dân gian và y học cổ truyền [7].

Trên cơ sở đánh giá tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước, nhóm tác giả thấy được tiềm năng kháng virus

của các chất đã được tìm thấy từ quả *S. torvum* cũng như ưu điểm của CADD, đặc biệt là tính hiệu quả và tiết kiệm thời gian, chi phí nghiên cứu. Một nghiên cứu khác vào năm 2021 đã tiến hành *in silico* dự đoán hoạt tính của 12 chất trong *S. torvum* trên protein chính 6LU7 của SARS-CoV-2 của nhưng kết quả còn hạn chế về cơ sở dữ liệu và chưa nghiên cứu sâu về sự ổn định của các hợp chất tiềm năng trên M^{pro} [8].

Vì vậy, đề tài được thực hiện với mục tiêu xây dựng cơ sở dữ liệu, docking, mô phỏng động lực học phân tử và đánh giá khả năng gắn kết của các chất có trong quả *S. torvum* vào đích tác động M^{pro} – enzyme protease đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhân lên của SARS-CoV-2. Bên cạnh đó, các thông số được động học và độc tính của các hợp chất ức chế tiềm năng cũng được tiến hành dự đoán bằng trí tuệ nhân tạo.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng

2.1.1 Cơ sở dữ liệu các chất có trong quả *S. torvum*

91 chất khác nhau được phân lập từ quả *S. torvum* thu thập từ 14 bài báo thuộc các tạp chí khoa học uy tín (Bảng 1).

Bảng 1 Cơ sở dữ liệu các chất phân lập từ quả của *S. Torvum*

STT	Tên bài báo*	Nhóm cấu trúc	Số lượng chất
1	ABB_2022_194_529	Nhiều nhóm dẫn xuất thu được từ GC-MS	10
2	CJNM_2011_9_30	Saponin và flavonoid	9
3	DPL_2010_2_403	Steroid glycosid	6
4	FIT_2014_93_209	Steroid glycosid	5
5	IJPHRD_2020_11_1365	Dẫn xuất acid quinic	6
6	JPP_2015_4_160	Saponin và dầu béo	3
7	JST_2021_4_19	Saponin	3
8	MC_2009_5_139	Polyphenol	4
9	NPR_2016_30_1682	Sesquiterpen	9
10	PC_2002_59_459	Flavonoid và steroid glycosid	4
11	PHY_2013_95_315	Steroid glycosid	15
12	PCL_2016_17_126	Sesquiterpen	8
13	PO_2021_16_12	Terpenoid	4
14	RS_2020_1_1	Vitamin và steroid glycosid	5
	Tổng số chất		91

*Tên viết tắt của tạp chí năm công bố tập trang đầu tiên của bài báo

2.1.2 Cấu trúc đích tác động M^{pro} của SAR-COV-2

Cấu trúc nhiễu xạ tia X của tinh thể M^{pro} SARS-CoV-2 (6LU7) sử dụng trong nghiên cứu được thu thập từ ngân hàng Protein Data Bank [9] Protein 6LU7 được phân lập từ chủng hoang dại, có độ phân giải 2,16 Å, phối tử đồng kết tinh là N3. N3 là một chất ức chế M^{pro} trên nhiều chủng virus corona bao gồm cả virus MERS-

CoV và SARS-CoV [10]. Ngoài ra N3 còn cho thấy hoạt tính kháng virus mạnh trên virus gây bệnh phổi truyền nhiễm [11]. N3 ức chế SARS-CoV-2 với giá trị hoạt tính ức chế IC₅₀ là 125 μM. Nirmatrelvir, một thuốc kháng virus được FDA chấp thuận trong sử dụng điều trị SARS-CoV-2, ức chế M^{pro} của virus với giá trị

hằng số ức chế $K_i = 3,11$ nM [12]. N3 và nirmatrelvir được sử dụng làm chứng dương trong nghiên cứu.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Docking

Chuẩn bị protein: *quickprep* là một bộ công cụ của MOE 2015.10 [13] để khám phá các tương tác của protein và phối tử. Sau đó, lưu protein vừa được chuẩn bị dưới dạng file *.pdb.

Xác định khoang gắn kết: vị trí gắn kết được xác định bằng LeadIT 2.0.2, dựa vào phạm vi bán kính 6,5 Å từ vị trí của phối tử đồng kết tinh [14].

Chuẩn bị phối tử: cấu trúc của các hợp chất, phối tử đồng kết tinh được vẽ bằng phần mềm Chemdraw 12.0.2 và lưu dưới dạng *.cdx. Sau đó các hợp chất được chuyển từ dạng *.cdx thành *.mol2 bằng phần mềm Openbabel. Các hợp chất được tối thiểu hóa 2 lần bằng phần mềm Sylbyl 2.0.

Docking: quá trình docking được thực hiện bằng phần mềm LeadIT 2.0.2 [14] bằng công cụ Docking → Define Flex X Docking, các thông số lựa chọn cho quá trình docking bao gồm: xuất 10 tư thế gắn kết tốt nhất cho mỗi chất, số bước lặp tối đa là 1.000 và số lần phân mảnh là 200, các thông số còn lại có giá trị mặc định.

Phân tích kết quả: điểm số docking (kJ/mol) được đánh giá dựa trên các liên kết tạo thành giữa phối tử và protein bao gồm liên kết ion, liên kết hydro, liên kết van der Waals, liên kết π - π ,... Kết quả docking được phân tích bằng các công cụ *PLIF*, *Surface and Maps*, *Ligand Interaction* tích hợp trong MOE.2015.10 cho biết ái lực gắn kết của phối tử với protein và tương tác giữa phối tử với các acid amin xung quanh. Hình ảnh phân tích tương tác được trích bằng phần mềm Pymol.

2.2.2 Mô phỏng động lực học phân tử

Các chất tiềm năng được tiến hành lựa chọn để mô phỏng động lực học phân tử (molecular dynamics – MD) bằng GROMACS 2020.6 [15]. Protein được tạo cấu trúc liên kết với từ trường CHARMM-27 [16]. Cấu dạng docking tốt nhất của phối tử được lưu ở dạng *.mol2. Cấu trúc liên kết của phối tử được tạo bằng công cụ SwissParam online [17], sau đó tạo file cấu trúc liên kết phức hợp protein và phối tử. Phức hợp được đặt vào một hộp mô phỏng 12 mặt với bán kính 10 Å so với protein. Hệ thống được làm đầy dung môi nước (TIP3P model) và trung hòa điện bằng ion Na^+ và Cl^- (nồng độ muối là 0,15 M). Hệ thống được tối thiểu hóa năng lượng trong 100 ps (pico giây) với lực tối đa là 10 kJ/mol. Hệ thống được cân bằng đẳng

hiệt đẳng tích trong 100 ps đến nhiệt độ 300 K, sau đó được cân bằng đẳng nhiệt đẳng áp trong 100 ps đến áp suất 1 bar. Cuối cùng, việc mô phỏng MD được thực hiện bằng thuật toán Verlet ở nhiệt độ 300 K và áp suất 1 bar. Thuật toán LINCS được sử dụng để hạn chế các liên kết hydro [18]. Bên cạnh đó, các tương tác không liên kết bị cắt ngắn ở 12 Å và sử dụng phương pháp Mesh Ewald để tính toán các tương tác tĩnh điện tầm xa. Các quỹ đạo MD được lưu sau mỗi 0,01 ns (nano giây).

Sau khi hoàn thành quá trình MD, dữ liệu từ các quỹ đạo được sử dụng để tính toán các giá trị RMSD (độ lệch bình phương trung bình gốc), RMSF (biến động bình phương trung bình gốc), R_g (bán kính quay) và SASA (diện tích bề mặt có thể tiếp cận dung môi) bằng các lệnh có sẵn của GROMACS để đánh giá tính ổn định của phức chất và ảnh hưởng của phối tử lên protein khi liên kết.

Đặc biệt, tỉ lệ hình thành liên kết hydro cũng được phân tích bằng phần mềm VMD để xác định khả năng tương tác của các phối tử với các acid amin chính. Một liên kết hydro được xác định theo tiêu chí hình học đơn giản: khoảng cách giữa nguyên tử hydro cho và chất nhận dưới 3.5 Å và góc D-H...A lớn hơn 120°.

Tính toán năng lượng liên kết tự do: công cụ *gmx_MMPBSA* [19] được dùng để tính toán dựa trên quỹ đạo của GROMACS với trường lực CHARMM-27. Công cụ này cho phép tính toán năng lượng tự do bằng cách sử dụng MM/GBSA. Hằng số điện môi của chất tan, nhiệt độ và nồng độ muối được đặt lần lượt là 1,0; 298 K và 0,15 M [20].

2.2.3 Phân tích dược động học ADMET

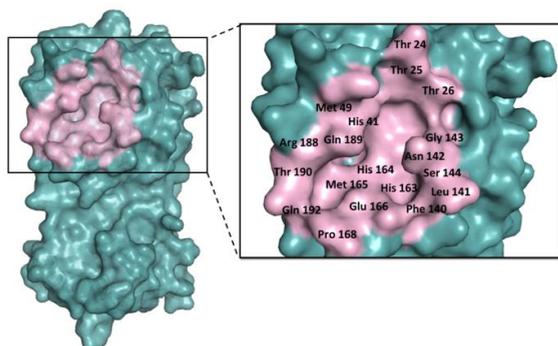
Công cụ ADMETlab 2.0 [21] được dùng để dự đoán và đánh giá các hợp chất tiềm năng dựa trên quy tắc Lipinski, Pfizer, PAINS (Pan Assay Interference Compounds). Ngoài ra, công cụ này còn có thể dự đoán các tính chất lí hóa, cảnh báo về khả năng hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính của các hợp chất [22].

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Xác định khoang gắn kết

Khoang gắn kết được xác định bằng phần mềm LeadIT 2.0.2 chứa các acid amin của M^{Pro} nằm trong bán kính 6,5 Å từ vị trí của phối tử đồng kết tinh N3 (Hình 1).





Hình 1 Khoang gắn kết của M^{pro} 6LU7

3.2 Docking

N3 và nirmatrelvir được docking vào khoang gắn kết với điểm số docking lần lượt là $-28,84$ kJ/mol và $-26,28$ kJ/mol

Điểm số docking của 91 chất phân lập từ quả *S. torvum* dao động từ $-27,27$ (CJNM_2011_9_30_rutin) đến $-0,34$ kJ/mol (JPP_2015_4_160_B). Năm hợp chất có điểm số docking tốt nhất vào khoang gắn kết được trình bày trong Bảng 2.

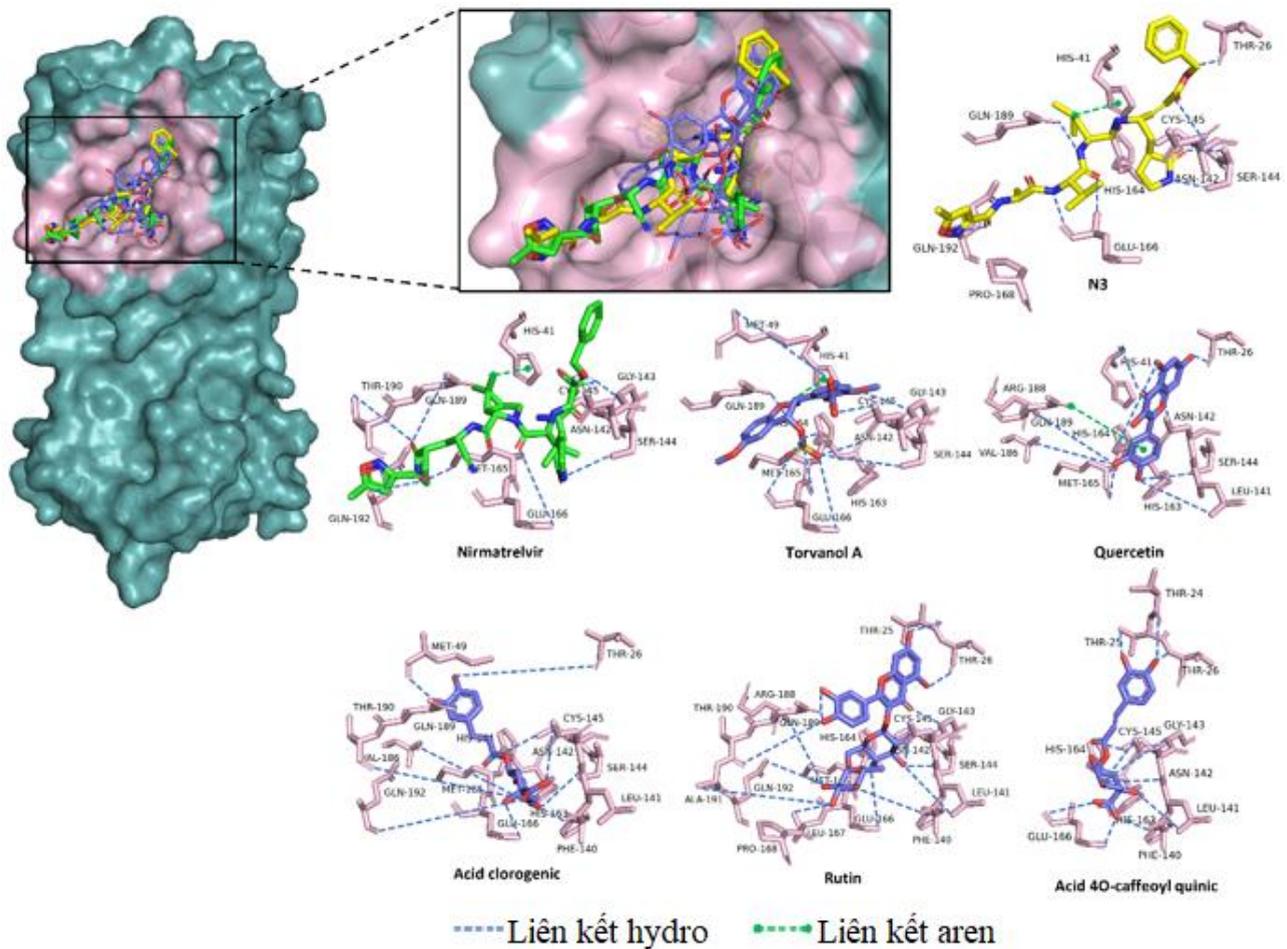
Bảng 2 Năm hợp chất có điểm số docking tốt nhất vào khoang gắn kết

Tên chất	Cấu trúc	Điểm số docking (kJ/mol)
Rutin		$-27,27$
Quercetin		$-24,58$
Torvanol A		$-22,04$

Acid chlorogenic		$-20,37$
Acid 4O-caffeoyl quinic		$-23,24$

Phân tích kết quả docking của 5 hợp chất tốt nhất và chứng dương N3, nirmatrelvir trên protein 6LU7 thấy rằng cả 5 hợp chất đều có cùng vị trí gắn kết với cả hai chứng dương (Hình 2). Giống với N3 và nirmatrelvir, cả 5 hợp chất đều tạo liên kết hydro với Ser 144, Glu 166 và Gln 189; tương tác bề mặt với Asn 142 và Gln 189. Bên cạnh đó, 5 hợp chất còn tạo liên kết hydro với các acid amin như Asn 142, và Met 165. Ngoài ra, torvanol A còn tạo tương tác aren với His 41 tương tự như N3 và nirmatrelvir.

Kết quả sàng lọc ảo bằng mô hình docking phân tử đã tìm ra 5 hợp chất có khả năng ức chế M^{pro} tiềm năng nhất là torvanol A, quercetin, acid chlorogenic, acid 4O-caffeoyl quinic và rutin. Trong đó, torvanol A là một chất đặc trưng trong quả *S. torvum* có hàm lượng 10 $\mu\text{g/g}$ [23], ngoài hoạt tính kháng virus herpes simplex 1 ($\text{IC}_{50} = 9,6$ $\mu\text{g/ml}$), torvanol A còn được chứng minh có hoạt tính chống trầm cảm và lo âu [24]. Trong nghiên cứu docking của tác giả Vaithilingam và cộng sự năm 2021 [8], và nghiên cứu docking của Alesawy và cộng sự năm 2021 [25], torvanol A cũng là một chất ức chế M^{pro} tiềm năng. Các hợp chất quercetin, acid chlorogenic và rutin đã có những công bố liên quan đến khả năng ức chế M^{pro} bằng các thử nghiệm *in vitro*, ví dụ như, hợp chất quercetin cho thấy tiềm năng ức chế M^{pro} của SARS-CoV-2 ($K_i = 7$ μM) [26], rutin và acid chlorogenic cho thấy hoạt tính ức chế virus SARS-CoV-2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 31 $\mu\text{g/ml}$ và 360 $\mu\text{g/ml}$ [27]. Acid 4O-caffeoyl quinic và các dẫn chất của acid caffeic quinic cũng cho thấy tiềm năng ức chế virus bằng các phương pháp sàng lọc ảo docking và mô phỏng động lực học phân tử 20 ns [28].



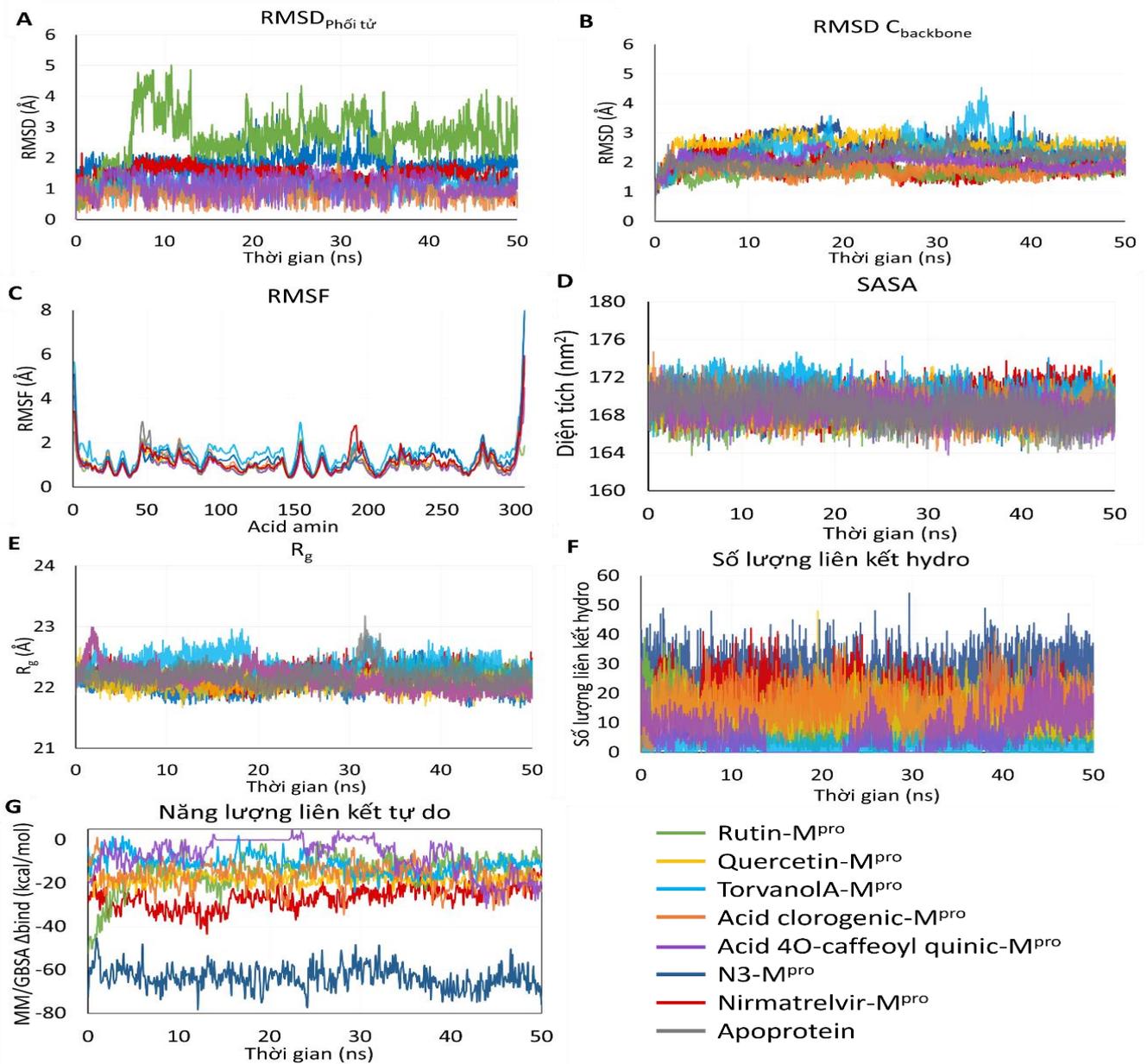
Hình 2 Tương tác giữa phối tử và các acid amin của protein M^{Pro}

3.3 Mô phỏng động lực học phân tử

Để đánh giá chi tiết hơn về khả năng gắn kết vào M^{Pro} của 5 hợp chất tiềm năng, nghiên cứu tiến hành mô phỏng động lực học phân tử trong 50 ns của bảy phức hợp gồm $N3-M^{Pro}$, $nirmatrelvir-M^{Pro}$, $rutin-M^{Pro}$, $quercetin-M^{Pro}$, $torvanol A-M^{Pro}$, $acid\ chlorogenic-M^{Pro}$, $acid\ 4-O\ caffeoyl\ quinic-M^{Pro}$, và trạng thái protein đơn lẻ (apoprotein). Kết quả quá trình mô phỏng động lực học phân tử được đánh giá dựa trên các yếu tố như độ ổn định của phối tử ($RMSD_{phối\ tử}$), độ ổn định của protein ($RMSD_{C_{backbone}}$), độ linh động của các amino acid ($RMSF$), bán kính chuyển động xoay của các acid amin (R_g), diện tích bề mặt có thể tiếp cận dung môi ($SASA$), năng lượng liên kết tự do ($MM/GBSA\ \Delta G_{bind}$) và số lượng liên kết hydro.

Nhìn chung, ngoại trừ rutin, các phối tử còn lại có giá trị $RMSD_{phối\ tử}$ tương đối thấp $< 2\ \text{Å}$ (Hình 3A). Phức hợp $acid\ chlorogenic-M^{Pro}$, $rutin-M^{Pro}$, $acid\ 4-O\ caffeoyl$

$quinic-M^{Pro}$ và chứng dương $nirmatrelvir-M^{Pro}$ có giá trị $RMSD_{C_{backbone}}$ trung bình nhỏ và ít dao động hơn so với apoprotein. Giá trị $RMSD_{C_{backbone}}$ của phức hợp $quercetin-M^{Pro}$, $torvanol\ A-M^{Pro}$ và chứng dương $N3-M^{Pro}$ dao động chủ yếu trong 35 ns đầu tiên và dần ổn định vào khoảng 15 ns cuối của mô phỏng (Hình 3B). Các acid amin trong phức hợp đa số đều có mức độ dao động ổn định và giống với trạng thái apoprotein, ngoại trừ phức hợp $torvanol\ A-M^{Pro}$ có giá trị $RMSF$ hơi lớn hơn so với các phức hợp còn lại (Hình 3C). Đồ thị $SASA$ (Hình 3D) cho thấy các phức hợp tương đối ổn định so với trạng thái apoprotein, giá trị $SASA$ trung bình từ (168,32-170,15) nm^2 và dao động trong khoảng (164-176) nm^2 . Giá trị R_g của apoprotein xấp xỉ với 5 phức hợp protein – phối tử (Hình 3E). Kết quả chỉ ra rằng, ngoại trừ $torvanol\ A-M^{Pro}$ các phức hợp còn lại đều ổn định trong 50 ns của quá trình mô phỏng MD.



Hình 3 (A) Đồ thị biểu diễn giá trị RMSD_{phối tử}, (B) RMSD C_{backbone}, (C) RMSF, (D) SASA, (E) R_g, (F) Số lượng liên kết hydro và (G) năng lượng liên kết tự do MM/GBSA ΔG_{bind} được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 50 ns

Số lượng liên kết hydro thống kê từ quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD và giá trị ΔG_{bind} của các phức hợp được trình bày trong Bảng 3 và Hình 3F, Hình G có thể được sử dụng để so sánh khả năng liên kết của các phối tử. Nhìn chung, cả năm hợp chất đều có giá trị ΔG_{bind} trung bình cao hơn so với phức hợp chứng dương N3-M^{pro} và nirmatrelvir-M^{pro}. Torvanol A-M^{pro} và acid 4-O-caffeoyl quinic-M^{pro} là hai hợp chất có số lượng liên kết hydro trung bình thấp nhất và giá trị ΔG_{bind} kém nhất. Điều này cho thấy hai hợp chất này có ái lực liên kết không tốt với M^{pro}. Phức hợp rutin-M^{pro} có sự thay đổi về số lượng liên kết hydro khá rõ rệt. Ở 10 ns đầu tiên

phức hợp hình thành nhiều liên kết hydro và có năng lượng liên kết tự do rất thấp, nhưng ở giai đoạn sau của quá trình mô phỏng, số lượng liên kết hydro và khả năng gắn kết của hợp chất vào protein ngày càng giảm. Hai phức hợp acid chlorogenic-M^{pro} và quercetin-M^{pro} có số lượng liên kết hydro trung bình cao nhất ($12,99 \pm 5,21$ và $15,38 \pm 5,60$) tương đương với phức hợp chứng dương nirmatrelvir-M^{pro}. Acid chlorogenic-M^{pro} và quercetin-M^{pro} có giá trị ΔG_{bind} tốt nhất ($-18,02 \pm 2,46$ và $-16,51 \pm 5,43$ kcal/mol). Hai hợp chất cho thấy khả năng gắn kết cao và ổn định trong suốt thời gian mô phỏng.

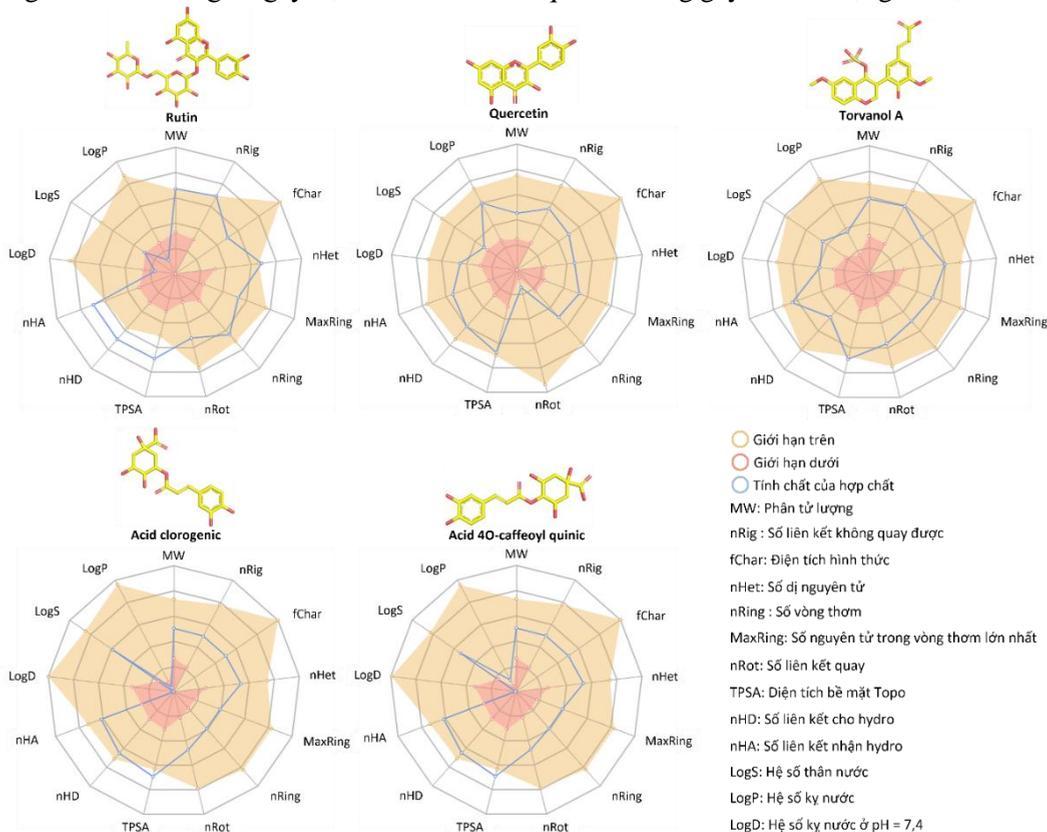
Bảng 3 Số lượng liên kết hydro và năng lượng liên kết tự do MM/GBSA trung bình của phức hợp trong mô phỏng MD 50ns

Phức hợp	Số lượng liên kết hydro	ΔG_{bind} trung bình (kcal/mol)
Rutin-M ^{PRO}	9,75 ± 5,88	-14,73 ± 8,15
Quercetin-M ^{PRO}	12,99 ± 5,21	-18,02 ± 2,46
Torvanol A-M ^{PRO}	2,11 ± 1,73	-10,98 ± 3,65
Acid clorogenic-M ^{PRO}	15,38 ± 5,60	-16,51 ± 5,43
Acid 4O-caffeoyl quinic-M ^{PRO}	6,12 ± 5,91	-7,15 ± 7,85
N3-M ^{PRO}	24,91 ± 5,92	-63,43 ± 5,22
Nirmatrelvir-M ^{PRO}	15,33 ± 6,27	-26,53 ± 5,13

3.4 Dự đoán đặc tính dược động học và độc tính ADMET

Việc xác định các đặc tính dược động học và độc tính của các chất đóng vai trò rất quan trọng trong quá trình khám phá thuốc. Những chất có hoạt tính tốt nhưng khả năng hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ kém và có độc tính cao cũng không được chấp thuận để đưa ra thị trường. Một hợp chất lí tưởng được dùng làm thuốc phải được hấp thu vào hệ thống tuần hoàn và thải trừ ra khỏi cơ thể mà không làm ảnh hưởng và gây độc cho cơ thể.

Năm hợp chất tiềm năng được tiến hành đánh giá các đặc tính dược động học và độc tính bằng phần mềm ADMETlab 2.0. Biểu đồ radar mô tả các đặc tính lí hóa của hợp chất ở Hình 4 cho thấy quercetin và torvanol A có tính chất lí hóa nằm trong giới hạn cho phép. Bên cạnh đó, rutin được dự đoán là hợp chất duy nhất không đáp ứng định luật Lipinski dành cho các thuốc thích hợp sử dụng đường uống. Về khả năng gây độc, hai dẫn chất của acid quinic là acid clorogenic và acid 4-O-caffeoyl quinic không gây các tác dụng bất lợi trên người.



Hình 4 Đặc tính lí hóa của các chất ức chế M^{PRO} tiềm năng từ quả *S. torvum*

4 Kết luận và kiến nghị

So với kết quả *in silico* dự đoán hoạt tính của các chất trong quả *S. torvum* của tác giả Vaithilingam và cộng sự công bố vào năm 2021 [8], nghiên cứu đã có sự mở rộng về cơ sở dữ liệu và phân tích sâu hơn về khả năng gắn kết của các hợp chất trên protein 6LU7 của SARS-CoV-2 bằng phương pháp docking và mô phỏng MD 50 ns. 91 chất có trong quả *S. torvum* thuộc các nhóm hợp chất saponin, flavonoid, steroid glycosid, dẫn xuất acid quinic, dầu béo, polyphenol, sesquiterpen, terpenoid, và vitamin đều được docking thành công, trong đó 5 hợp chất được dự đoán có hoạt tính tốt nhất là quercetin, rutin, torvanol A, acid chlorogenic, và acid 4-O-caffeoyl quinic. Năm hợp chất đều tạo các liên kết hydro, tương tác bề mặt và tương tác aren với các acid amin chính trong khoang gắn kết của protein 6LU7 tương tự với chứng dương N3 và nirmatrelvir, từ đó cho thấy cả 5 hợp chất có tiềm năng ức chế virus SARS-CoV-2. Kết quả MD cho thấy phức hợp quercetin và acid chlorogenic với M^{PRO} có ái lực gắn kết tốt ($-18,02 \pm 2,46$ và $-16,51 \pm 5,43$) kcal/mol, số lượng liên kết hydro cao ($12,99 \pm 5,21$ và $15,38 \pm 5,60$) và ổn định trong suốt quá trình mô phỏng. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đó về tiềm năng ức chế SAR-CoV-2 của quercetin [26,29-31] và acid chlorogenic [27,32-33]. Nghiên cứu được động học cho

thấy cả hai chất đều đáp ứng Luật Lipinski, Pfizer và GSK dành cho các thuốc sử dụng đường uống.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mô hình docking phân tử và mô phỏng MD đã xây dựng có khả năng sàng lọc tốt các chất ức chế M^{PRO}, phù hợp với các nghiên cứu trước đây và có thể ứng dụng trong sàng lọc các hợp chất tự nhiên. Tuy nhiên, nghiên cứu vẫn chưa tìm ra chất có tác dụng ức chế M^{PRO} tốt hơn so với chứng dương là N3 và nirmatrelvir. Vì vậy, đề tài kiến nghị sử dụng mô hình *in silico* đã xây dựng để tiến hành sàng lọc ảo trên quy mô lớn các hợp chất tự nhiên từ nguồn dược liệu phong phú của Việt Nam. Bên cạnh đó, những dược liệu giàu quercetin như dâu tằm-*Morus alba*, chè-*Camellia sinensis*, hành hoa-*Allium fistulosum*, rau má-*Centella asiatica*, chùm ngây-*Moringa oleifera*, bạch quả-*Ginkgo biloba*,... [34]; giàu acid chlorogenic như cà phê-*Coffea* spp., khoai tây-*Solanum tuberosum*, cà chua-*Solanum lycopersicum*, cà tím-*Solanum melongena*, chè, actis-*Cynara scolymus*, ... [35]; và các dẫn xuất flavonol, acid caffeic quinic khác cũng cần được quan tâm nghiên cứu thử nghiệm hoạt tính ức chế SAR-CoV-2 để tìm ra những cấu trúc có hoạt tính ức chế M^{PRO} hiệu quả hơn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài 2022.01.98/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Organization W. H. (2023). *COVID-19 weekly epidemiological update, edition 144, 25 May 2023*.
2. Markov P. V., Ghafari M., Beer M., et al. (2023). The evolution of SARS-CoV-2. *Nature Reviews Microbiology*, pp. 1-19.
3. Leelananda S. P., Lindert S. (2016). Computational methods in drug discovery. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12 (1), pp. 2694-2718.
4. Murugan N. A., Pandian C. J., Jeyakanthan J. (2021). Computational investigation on *Andrographis paniculata* phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (12), pp. 4415-4426.
5. Umesh, Kundu D., Selvaraj C., Singh S. K., Dubey V. K. (2021). Identification of new anti-nCoV drug chemical compounds from Indian spices exploiting SARS-CoV-2 main protease as target. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (9), pp. 3428-3434.
6. Vegad U. G., Gajjar N. D., Nagar P. R., et al. (2023). In silico screening, ADMET analysis and MD simulations of phytochemicals of *Onosma bracteata* Wall. as SARS CoV-2 inhibitors. *3 Biotech*, 13 (7), pp. 221.
7. Wiart C., Mogana S., Khalifah S., et al. (2004). Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia*, 75 (1), pp. 68-73.
8. Vaithilingam S., Vivekanandan L., Krishna M. S. (2021). Study of Pubchem Compounds for as Antiviral Agent against SARS-CoV-2. *The Open COVID Journal*, 1 (1), pp. 235-242.

9. Liu X., Zhang, B., Jin, Z., Yang, H., Rao, Z. (2020). *6LU7 - The crystal structure of COVID-19 main protease in complex with an inhibitor N3*. Protein Data Bank <https://doi.org/102210/pdb6LU7/pdb>.
10. Yang H., Xie W., Xue X., et al. (2005). Design of wide-spectrum inhibitors targeting coronavirus main proteases. *PLoS biology*, 3 (10), pp. e324.
11. Jin Z., Du X., Xu Y., et al. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 582 (7811), pp. 289-293.
12. Owen D. R., Allerton C. M., Anderson A. S., et al. (2021). An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. *Science*, 374 (6575), pp. 1586-1593.
13. Inc. C. C. G. Molecular operating environment (MOE): *Chemical Computing Group Inc.* Montreal, QC, Canada, 2016.
14. LeadIT. Version 2.0.2.: BioSolveIT – GmbH, 2012.
15. Spoe L. A. H. v. d. (2020). *GROMACS 2020.6 Documentation (Release 2020.6)*. Zenodo.
16. Abraham M. J., Murtola T., Schulz R., et al. (2015). *GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers*. *SoftwareX*, 1, pp. 19-25.
17. Zoete V., Cuendet M. A., Grosdidier A., Michielin O. (2011). SwissParam: a fast force field generation tool for small organic molecules. *Journal of Computational Chemistry*, 32 (11), pp. 2359-2368.
18. Hess B., Bekker H., Berendsen H. J., Fraaije J. G. (1997). LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 18 (12), pp. 1463-1472.
19. Valdés-Tresanco M. S., Valdés-Tresanco M. E., Valiente P. A., Moreno E. (2021). gmx_MMPBSA: a new tool to perform end-state free energy calculations with GROMACS. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 17 (10), pp. 6281-6291.
20. Phan T. V., Nguyen V. T. V., Nguyen C. H. H., et al. (2023). Discovery of AcrAB-TolC pump inhibitors: Virtual screening and molecular dynamics simulation approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, pp. 1-18.
21. 2.0 A. (2021). *ADMETlab 2.0*. <https://admetmesh.scbdd.com/>.
22. Xiong G., Wu Z., Yi J., et al. (2021). ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49 (W1), W5-W14.
23. Arthan D., Svasti J., Kittakoop P., et al. (2002). Antiviral isoflavonoid sulfate and steroidal glycosides from the fruits of *Solanum torvum*. *Phytochemistry*, 59 (4), 459-463.
24. Mohan M., Attarde D., Momin R., Kasture S. (2013). Antidepressant, anxiolytic and adaptogenic activity of torvanol A: an isoflavonoid from seeds of *Solanum torvum*. *Natural Product Research*, 27 (22), pp. 2140-2143.
25. Alesawy M. S., Abdallah A. E., Taghour M. S., et al. (2021). In silico studies of some isoflavonoids as potential candidates against COVID-19 targeting human ACE2 (hACE2) and viral main protease (Mpro). *Molecules*, 26 (9), pp. 2806.
26. Abian O., Ortega-Alarcon D., Jimenez-Alesanco A., et al. (2020). Structural stability of SARS-CoV-2 3CLpro and identification of quercetin as an inhibitor by experimental screening. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1693-1703.
27. El Gizawy H. A., Boshra S. A., Mostafa A., et al. (2021). Pimenta dioica (L.) Merr. bioactive constituents exert anti-SARS-CoV-2 and anti-inflammatory activities: molecular docking and dynamics, in vitro, and in vivo studies. *Molecules*, 26 (19), pp. 5844.
28. Adem Ş., Eyupoglu V., Sarfraz I., et al. (2021). Caffeic acid derivatives (CAFDs) as inhibitors of SARS-CoV-2: CAFDs-based functional foods as a potential alternative approach to combat COVID-19. *Phytomedicine*, 85, pp. 153310.
29. Gasmi A., Mujawdiya P. K., Lysiuk R., et al. (2022). Quercetin in the Prevention and Treatment of Coronavirus Infections: A Focus on SARS-CoV-2. *Pharmaceuticals*, 15 (9), pp. 1049.
30. Munafò F., Donati E., Brindani N., et al. (2022). Quercetin and luteolin are single-digit micromolar inhibitors of the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. *Scientific Reports*, 12 (1), pp. 10571.

31. Onal H., Arslan B., Ergun N. U., et al. (2021). Treatment of COVID-19 patients with quercetin: A prospective, single-centre, randomized, controlled trial. *Authorea Preprints*.
32. Wang W.-X., Zhang Y.-R., Luo S.-Y., et al. (2022). Chlorogenic acid, a natural product as potential inhibitor of COVID-19: virtual screening experiment based on network pharmacology and molecular docking. *Natural Product Research*, 36 (10), pp. 2580-2584.
33. Patil R., Khatib N., Patil V., Suryawanshi S. (2021). Chlorogenic acid may be a potent inhibitor of dimeric SARS-CoV-2 main protease 3CLpro: an in silico study. *Tradit Med Res*, 6 (2), pp. 20.
34. Singh P., Arif Y., Bajguz A., Hayat S. (2021). *The role of quercetin in plants*. Plant Physiology and Biochemistry, 166, pp. 10-19.
35. Gil M., Wianowska D. Recent advances in extraction and analysis procedures of natural chlorogenic acids. *Phytochemistry Reviews*, pp. 10.

***In silico* screening of potential SARS-CoV-2 M^{pro} inhibitors from the fruits of *Solanum torvum* Sw. Solanaceae**

Thien-Vy Phan¹, Vu-Thuy-Vy Nguyen¹, Bich-Ngoc-Giau Lu²

¹Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

²Science and Technology Department, Nguyen Tat Thanh University

ptvy@ntt.edu.vn

Abstract The emergency of novel SARS-CoV-2 variants may cause the increasing of infection rates and vaccine resistance. Some previous studies have suggested that *Solanum torvum* fruit may have antiviral activity. Therefore, the application of computer-aided drug design to discover the potential SARS-CoV-2 antiviral compounds is a cost-effective and time-saving strategy. The database included 91 substances found in *S. torvum* fruit collected from 14 scientific articles, which were docked into the main protease M^{pro} of SARS-CoV-2 wild-type strain. 5 substances with the best docking results were quercetin, torvanol A, rutin, chlorogenic acid and 4-O-caffeoyl quinic acid. The MD analysis indicated that the complex of quercetin - M^{pro} and chlorogenic acid - M^{pro} were stable and had good binding ability (ΔG_{bind} of $(-18,02 \pm 2,46$ and $-16,51 \pm 5,43)$ kcal/mol, respectively) during 50 ns simulation. The ADMET prediction showed that both substances were less toxic and suitable for oral administration. The results of this research demonstrate that the molecular docking model and MD simulation have a good ability to screen M^{pro} potential inhibitors. This is consistent with previous studies and suggests that these methods can be applied in the screening of natural compounds.

Keywords SARS-CoV-2, docking, MD, ADMET, virtual screening, *S. torvum*