

Nghiên cứu các hợp chất từ *Eclipta prostrata* có tiềm năng ức chế enzyme RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) của virus Sars-CoV-2 bằng phương pháp Docking phân tử

Study of *Eclipta prostrata* compounds with potential inhibition of RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) enzyme of Sars-CoV-2 virus using molecular docking

Hồ Thiên Hoàng^{1*}, Nguyễn Thị Uyên Thanh¹, Quan Quốc Đăng^{2,3}, Bùi Đình Thạch⁴

¹Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trung tâm Phát triển Khoa học và Công nghệ Trẻ, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Công ty Thiên Thanh Bio, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Viện Sinh học nhiệt đới, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: hothienhoang@iuh.edu.vn

THÔNG TIN

TÓM TẮT

DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.18.2.2752.2023

Ngày nhận: 11/04/2023

Ngày nhận lại: 11/05/2023

Duyệt đăng: 24/05/2023

Covid-19 đã và đang diễn ra do Sars-CoV-2 đã tạo ra đại dịch toàn cầu và vẫn chưa đến hồi kết thúc. Nghiên cứu này sử dụng phương pháp docking phân tử để sàng lọc các hợp chất từ *Eclipta prostrata* có tiềm năng bất hoạt enzyme RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) của virus Sars-CoV-2, một enzyme quan trọng trong việc sao chép của virus. Nghiên cứu này đã đánh giá một thư viện bao gồm 55 hợp chất tự nhiên từ *E. prostrata* chống lại protein RdRp. Trong đó, năm hợp chất tiềm năng có thể kết hợp với RdRp chủ yếu bằng các tương tác hydro giữa các hợp chất và các nhóm amino acid nằm ở vùng trung tâm hoạt động của RdRp bao gồm: echinocystis acid (T21), eclalbasaponin I (T22), ecliptasaponin A (T23), oleanolic acid (T41) và ursolic acid (T52). Sự tương tác này có tiềm năng bất hoạt enzyme RdRp, cản trở sự nhân bản của virus. Nghiên cứu này có tiềm năng mở ra cơ hội cho phát triển các thuốc chống Covid-19 từ các hợp chất tự nhiên.

Từ khóa:

Covid-19; *Eclipta prostrata*; lắp ghép phân tử; RNA-dependent RNA polymerase (RdRp); Sars-CoV-2

Keywords:

Covid-19; *Eclipta prostrata*; molecular docking; RNA-dependent RNA polymerase (RdRp); Sars-CoV-2

ABSTRACT

The Covid-19 pandemic has emerged as a global health crisis, with no definitive end in sight. In this study, molecular docking was employed to screen compounds derived from *Eclipta prostrata* for their potential inhibitory effects on the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) enzyme of the Sars-CoV-2 virus. RdRp plays a crucial role in the replication of the virus. A library consisting of 55 natural compounds from *E. prostrata* was evaluated for their anti-RdRp activity. Among them, five potential compounds exhibited the ability to interact primarily with RdRp through hydrophobic interactions with amino acid groups located in the active site region of RdRp. These compounds include echinocystis acid (T21), eclalbasaponin I (T22), ecliptasaponin A (T23), oleanolic acid (T41), and ursolic acid (T52). These interactions have the potential to render the RdRp enzyme inactive, thereby impeding viral replication. This research holds promise for the development of Covid-19 therapeutics using natural compounds.

1. Đặt vấn đề

Đại dịch Covid-19 đã gây tác động nghiêm trọng đến sức khỏe của con người trên toàn thế giới. Đại dịch bắt đầu bùng phát ở Vũ Hán (Trung Quốc) vào tháng 12 năm 2019, và lan truyền nhanh trên toàn thế giới cho đến nay. Theo Worldometer (2023), đến ngày 18/04/2023 đã có 685,758,904 người bị nhiễm bệnh và 6,843,023 người bị tử vong. Đại dịch Covid-19 đã góp phần gây suy thoái các nền kinh tế trên thế giới một cách nghiêm trọng. Nguyên do gây bệnh là do chủng virus được gọi là Sars-CoV-2. Chủng virus này dễ lây lan hơn so với những chủng thuộc lớp beta coronavirus trước đây như: Sars-CoV-1 và Mers-CoV. Các beta coronavirus thường tấn công vào hệ thống hô hấp dưới, gây ra bệnh viêm phổi do virus và có thể ảnh hưởng đến hệ tiêu hóa, tim, thận và các cơ quan khác, điều này dẫn đến hệ quả cuối cùng là suy đa tạng (Wang & ctg., 2020).

Coronavirus có cấu tạo di truyền là chuỗi mạch RNA đơn (26-32 kilobase) và thuộc phân họ Sarbecovirus của họ Coronaviridae, là thành viên của chi Betacoronavirus. Genome của Sars-CoV-2 chứa các các đoạn gene mã hóa hai loại protein cơ bản là: protein phi cấu trúc (non-structural protein (nsps)) và protein cấu trúc. Các protein cấu trúc có vai trò tạo thành các protein cấu tạo vỏ virus như protein màng (M), protein vỏ (E), glycoprotein gai (Spike) (S) và protein nucleocapside (N). Ngoài các protein cấu trúc trên, enzyme RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) hay còn được gọi là nsp12, là một enzyme đóng vai trò điều hòa sự nhân bản của virus. Do đó, enzyme này được coi như là một protein mục tiêu để đánh giá và thử nghiệm các loại thuốc tiềm năng trong việc ức chế sự nhân bản của các loại RNA virus (Tang & ctg., 2020). Bên cạnh đó, protein mục tiêu này không có ở người, do đó có ý nghĩa trong việc lựa chọn và chọn lọc thuốc vì nó ít tác động đối với con người (Shu & Gong, 2016; Su & ctg., 2016). Enzyme RdRp cùng với sự hỗ trợ của các cofactor như nsp7 và nsp8 có tác dụng điều hòa quá trình sao chép và phiên mã Sars-CoV-2. Vùng đầu C (C-terminal) của RdRp tương tự như của các virus khác, tuy nhiên vùng đặc hiệu cơ chất của RdRp nằm ở vùng đầu N (N-terminal) là nơi tương tác với cơ chất (Shu & Gong, 2016). Cho đến hiện nay, remdesivir và favipiravir là nhóm chất ức chế RdRp và ngăn chặn hoạt động của nucleotide transferase, đã được FDA công nhận trong việc sử dụng điều trị Covid-19.

Giống như nhiều loại virus khác, Sars-CoV-2 thường xuyên biến đổi về mặt di truyền để tạo ra nhiều biến thể mới. Các biến thể này có thể làm tăng khả năng lây lan hoặc khi xâm nhập vào cơ thể bệnh nhân sẽ gây những biến chứng mới hoặc chúng có khả năng lẩn tránh kháng thể của con người. Do mối nguy hiểm không được biết trước mà các nhà nghiên cứu vẫn luôn tiếp tục tìm kiếm các loại vaccine mới hiệu quả hơn, bên cạnh cũng tìm kiếm những loại thuốc có khả năng điều trị Covid-19 một cách có hiệu quả (Orders, 2021). Hiện nay, các hợp chất hóa học từ tự nhiên đã giành được sự chú ý vì tính tiện dụng, ít tác dụng phụ và thân thiện con người. *E. prostrata* là loài cây mọc hoang thuộc họ Asteraceae. *E. prostrata* trong y học cổ truyền của các nước Đông Á được dùng để chữa các bệnh về đường hô hấp như lao phổi, bạch hầu, bệnh tiểu đường loại 2; các hoạt động chống tăng lipid máu, hạ đường huyết và chống oxy hóa. Ở Việt Nam, *E. prostrata* được cho là có tác dụng chống ung thư (Trinh & ctg., 2018). Các thành phần hóa học chính tìm thấy ở *E. prostrata* bao gồm: coumarin, flavon, luteolin, tinh dầu, saponin, β -amyrin và triterpenes, ... (Feng & ctg., 2019). Mục tiêu của nghiên cứu này là sàng lọc các hợp chất ở *E. prostrata* có hoạt tính kháng Covid-19 bằng phương pháp Docking phân tử dựa trên protein mục tiêu là RdRp. Đây là phương pháp đơn giản rẻ tiền, giảm thiểu được các bước thử nghiệm sàng lọc *in-vitro*.

2. Đối tượng và phương pháp

Vật liệu

Đối tượng được chọn cho nghiên cứu là: RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) cùng với những phối tử là các hợp chất tự nhiên có trong *E. prostrata*.

Thu thập các hợp chất tự nhiên từ cây *Eclipta prostrata* (L)

- Dữ liệu các hợp chất có trong *E. prostrata* được thu thập từ tài liệu của tác giả Feng và cộng sự (2019). Cấu trúc protein RdRp được thu thập từ cơ sở dữ liệu Protein (<https://www.rcsb.org>, PDB ID: 6XQB). Các phân tử nước được loại bỏ trong cấu trúc protein. Đồng thời các phối tử trước khi tiến hành Docking được thêm vào các nguyên tử hydro và tính toán điện tích Kollmans bằng phần mềm MGL Autodock tools version v1.5.7 (Huey & Morris, 2006).

Vùng trung tâm hoạt động là nơi gắn kết các phối tử được lựa chọn bởi một hộp lưới có kích thước 40Å x 40Å x 40Å. Khoảng cách của các lưới là 0.375Å. Việc lựa chọn tọa độ của hộp lưới dựa vào trung tâm hoạt động của các protein đã được công bố trước đây (Alghamdi & ctg., 2021). Các cấu trúc protein này sẽ được lưu ở định dạng PDBQT để chuẩn bị cho quá trình docking giữa protein mục tiêu và các phối tử.

Gắn kết và sàng lọc phân tử

Nghiên cứu gắn kết phân tử được sử dụng để khám phá sự tương tác/liên kết tiềm năng giữa các phối tử và protein. Đây là quá trình tính toán và dự đoán cách mà hai hoặc nhiều phân tử có thể tương tác và gắn kết nhau trong không gian ba chiều. Sự gắn kết phân tử được thực hiện bằng phần mềm Autodock Vina (Trott & Olson, 2010).

Đánh giá kết quả docking: kết quả sẽ được thể hiện ở các dạng gắn kết của các phối tử với các protein mục tiêu. Sự tương tác của các amino acid ở trung tâm hoạt động của protein mục tiêu và các phối tử sẽ được tính toán mức năng lượng liên kết (kcal.mol⁻¹) bằng phần mềm Autodock. Từ các kết quả trên, tiến hành lựa chọn ra các phối tử tiềm năng để đánh giá sự tương tác của protein mục tiêu với các phối tử.

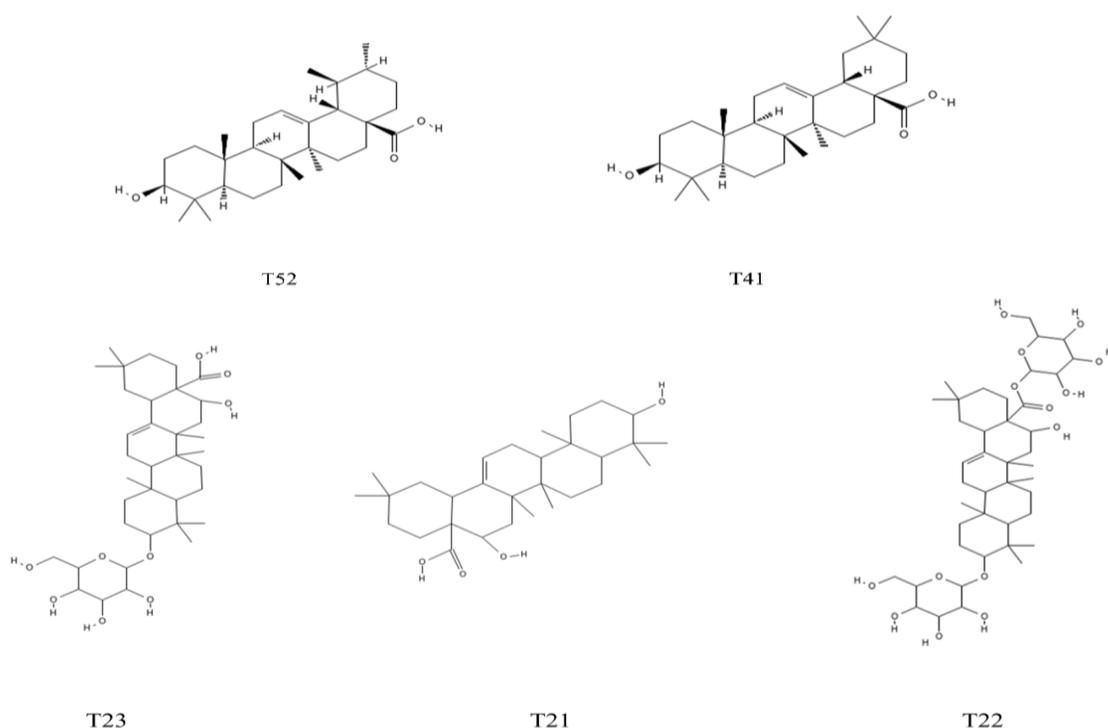
Đánh giá và dự đoán các thông số về độc học và độc tính của phối tử

Các thông số độc học và độc tính của phối tử tiềm năng được đánh giá qua công cụ SwissADME. SwissADME là một công cụ tính toán và dự đoán các thuộc tính hóa học và dược lý của các phân tử bao gồm đánh giá tính chất hấp thu, phân bố, chuyển hóa và độc tính của các hợp chất hóa học. Phương pháp này dựa trên một số mô hình dự đoán của Daina, Michielin, và Zoete (2017) được xây dựng trên cơ sở dữ liệu lớn chứa các thông tin về các phân tử đã được kiểm tra thực nghiệm. SwissADME cung cấp nhiều đặc điểm khác nhau của các hợp chất bao gồm các chỉ số hóa học như: độ phân cực, độ tan trong nước, thuộc tính về hấp thụ như chỉ số LogP (số liệu về phân bố n-octanol/nước) và chỉ số LogS (số liệu về độ tan trong nước). Các tính chất chuyển hóa như khả năng chuyển hoá gan và khả năng ức chế cytochrome P450. Ngoài ra, SwissADME cũng đánh giá tiềm năng độc tính của các hợp chất dựa trên các mô hình dự đoán cho các hoạt động không mong muốn như độc tính gan, độc tính thận, và độc tính trung tâm thần kinh. Điều này giúp người dùng có cái nhìn tổng quan về tính chất và tiềm năng dược lý của một hợp chất hóa học.

3. Kết quả và bàn luận

Kết quả gắn kết phân tử

Nghiên cứu đã sử dụng 55 hợp chất có trong *E. prostrata* để tiến hành gắn kết phân tử vào protein RNA-dependent RNA polymerase (PDB: 6XQB), là enzyme tổng hợp chuỗi RNA mới, cho phép virus sao chép và sản xuất các bản sao của chính Sars-CoV2. Tổng cộng, 55 phân tích gắn kết phân tử in-silico đã được thực hiện. Thí nghiệm gắn kết phân tử được thực hiện ở cả RdRp có gắn RNA hoặc không có gắn RNA. Kết quả năng lượng liên kết tự do giữa những phối tử và protein được thể hiện ở Phụ lục A, B. Dựa vào kết quả dự đoán về năng lượng liên kết, tiến hành đánh giá và phân tích để xác định mức độ tương tác và tính chất của các tương tác. Các hợp chất tiềm năng được phân tích bao gồm: Echinocystis acid (T21), eclalbasaponin I (T22), ecliptasaponin A (T23), oleanolic acid (T41) và ursolic acid (T52) theo Hình 1.



Hình 1. Cấu trúc của năm hợp chất có năng lượng liên kết tự do thấp nhất: T52 (ursolic acid), T41 (oleanolic acid), T23 (ecliptasaponin A), T21 (echinocystis acid), T22 (eclalbasaponin I)

Dựa vào kết quả ở Bảng 1 và 2 cho thấy các hợp chất T21, T22, T23, T41 và T52 thỏa mãn với mức năng lượng tự do thấp nhất. Năm tương tác phân tử tốt nhất được chọn dựa trên tương tác của phối tử và protein, năng lượng tự do biểu thị bằng kcal/mol, hằng số ức chế (K_i) biểu thị bằng μM , số liên kết hydro và dư lượng tương tác (Bảng 3). Để tính toán ái lực liên kết của các hợp chất và enzyme- hằng số phân ly (K_i) được dự đoán bằng cách sử dụng Autodocktools. Khoảng cách hộp lưới là 0.375\AA với Center_X = 93, Center_Y = 81.8, Center_Z = 97 và Size_X = 40 npts, Size_Y = 40 npts và Size_Z = 40 npts. Số lượng đánh giá năng lượng tối đa trong mỗi lần chạy được giữ tương ứng là 150 và 25,000,000, tương ứng để xác định phương pháp lắp ghép phù hợp tốt nhất và các thông số thiết lập khác được đặt thành mặc định.

Các giá trị của K_i thường được sử dụng để so sánh hiệu lực tương đối của các chất ức chế. K_i , giá trị càng nhỏ biểu thị ái lực liên kết của phối tử và protein càng cao. Từ kết quả dự

đoán của Autodock, cho thấy rằng T52 ở cả hai mô hình gắn kết có hoặc không có sự xuất hiện của RNA đều có khả năng tương tác tốt với protein, do đó T52 có thể có tiềm năng tốt nhất để ức chế RdRp của SARS-Cov-2 với giá trị Ki lần lượt là 2.33μM, 1.8μM.

T52 (ursolic acid) được tác giả Al-kuraishy, Al-Gareeb, Negm, Alexiou, và Batiha (2022) đánh giá có vai trò quan trọng trong việc điều trị Covid-19. Các nghiên cứu về lắp ghép phân tử gần đây đã cho thấy T52 có thể ức chế protease của Sars-CoV-2. Subbaiyan và cộng sự (2020), đã chỉ ra rằng T52 tương tác với protein virus và thụ thể enzyme angiotensin 2 (ACE2), qua đó tránh sự xâm nhập của virus vào tế bào (Subbaiyan & ctg., 2020). Trong các bệnh nhiễm trùng nghiêm trọng, sự gia tăng các phản ứng miễn dịch quá mức làm tăng các cytokine gây viêm. Các quá trình này có liên quan đến sự tổn thương phổi cấp tính ALI (acute lung injury) và hội chứng suy hô hấp cấp tính ARDS (acute respiratory distress syndrome). Yang và cộng sự (2021), nghiên cứu thử nghiệm trên chuột cho thấy T52 làm suy giảm sự phát triển của ALI do stress nhiệt gây ra (Yang & ctg., 2021). Shan, Xuan, Zheng, Dong, và Zhang (2009) đã cho thấy tác dụng bảo vệ phổi của T52 có thể thông qua việc ức chế giải phóng các cytokine gây viêm và tiền viêm qua trung gian kích hoạt p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK). Do đó, T52 có thể ngăn ngừa lây nhiễm Sars-CoV-2 gây ra ALI thông qua điều chỉnh các đường truyền tín hiệu gây viêm và tiền viêm.

Bảng 1

Tóm tắt về hằng số ức chế (Ki) và các mức năng lượng tương tác phân tử tốt nhất

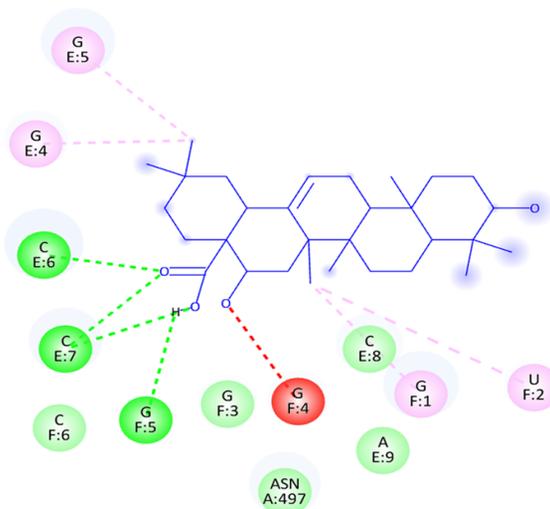
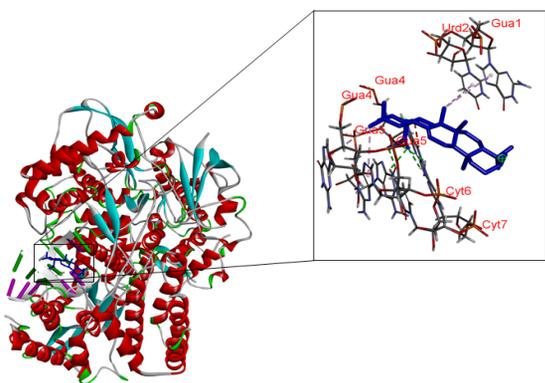
Protein	Phối tử	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	Ki (μM)	Protein	Phối tử	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	Ki (μM)
6XQB (RNA và RNA-dependent RNA polymerase)	T21	-10.3	4.23	6XQB (RNA-dependent RNA polymerase)	T21	-8.9	5.5
	T22	-11.2	2.98		T22	-9.3	2.92
	T23	-10.9	6.68		T23	-8.7	6.37
	T41	-10.5	4.5		T41	-8.8	3.96
	T52	-10.2	1.8		T52	-9.3	2.33

Dựa vào (Bảng 1, Hình 2, Hình 3) có thể thấy rằng: với sự có mặt của RNA, T21 là một pentacyclic triterpenoid tương tác tốt với RdRp khi có sự hiện diện của RNA (đoạn RNA của virus) (-10.3 kcal/mol). Nhóm hydroxyl của T21 tương tác với Guanin 5, Cytosine 6 và Cytosine 7 của RNA bằng liên kết hydro (Hình 2a) điều này cho thấy rằng, khi có sự hình thành các liên kết hydrogen giữa triterpenoid và RNA sẽ giảm sự hình thành các liên kết giữa RNA với protein qua đó ức chế sự sao chép RNA trên RdRp. Trong trường hợp không có sự hiện diện của RNA (Hình 3a), T21 liên kết trực tiếp với RdRp với năng lượng liên kết (-8.9 kcal/mol). Nhóm C29 và C30 trên T21 hình thành liên kết pi-alkyl với nhóm amino acid LYS621, ARG624, ALA688 và nhóm C27 trên T21 tương tác với CYS622 bằng tương tác alkyl. Thêm vào đó C23 của T21 cũng tương tác với LEU758 và ALA688 thông qua tương tác alkyl. Có thể thấy rằng T21 được gắn vào RdRp thông qua các tương tác kỵ nước. Các kết quả trên cho thấy rằng T21 có khả năng liên kết chặt với cả RNA và RdRp. Do đó, T21 có khả năng ngăn cản quá trình tổng hợp các RNA

mới của virus. Eclalbasaponin I (T22) là một triterpene saponin tương tác RNA-RdRp với mức năng lượng (-11.2 kcal/mol). Các nhóm hydroxyl trên nhóm glycosid tạo nên các liên kết hydro với Adenine9, Cytosine8, Guanin3. Ngoài ra, các nhóm hydroxyl còn hình thành nên các liên kết hydro với các acid amin ASP618, TYR619, LYS 621 và CYS622 (Hình 2b). Trong khi đó, T22 khi không có mặt của RNA có mức năng lượng (-9.3 kcal/mol) cao hơn so với khi có sự hiện diện của RNA. Các liên kết hydro được hình thành giữa nhóm 16- β -D-glucopyranosyl của T22 với amino acid SER759, SER814 trên RdRp. Ngoài ra, ASP833 của RdRp cũng hình thành các liên kết hydro với 3-(β -D-glucopyranosyloxy) T22 (Hình 3b). Ecliptasaponin A (T23) tương tự cũng là 1 dẫn xuất của echnocystic acid với nhóm glycoside. Khi có sự hiện diện của RNA, T23 tương tác với RNA-RdRp có mức năng lượng liên kết (-10.9 kcal/mol). Các liên kết hydro được hình thành giữa nhóm Uracin2 trên RNA và C28-carboxylate trên T23. Nhóm Guanin5, Cytosine6 trên RNA và nhóm hydroxyl 2', nhóm Guanin3 trên nhóm hydroxyl 3, nhóm Guanin4 trên nhóm hydroxyl 4, trên T23 (Hình 2c). Khi không có sự hiện diện của RNA, T23 cũng hình thành năng lượng liên kết với RdRp (-8.7 kcal/mol) do sự hình thành các liên kết hydro với các amino acid SER759 trên RdRp với nhóm glycosyl và GLU811 với nhóm hydroxyl trên nhóm T23 (Hình 3c). Tiếp theo là oleanolic acid (T41), tương tác với RNA-RdRp có năng lượng liên kết (-10.5 kcal/mol). T41 cũng là một pentacyclic triterpenoid, nhóm C28-carboxylat tạo thành liên kết hydro với Guanin6 và Cystine7 trên RNA. Ngoài ra nhóm hydroxyl C3 hình thành liên kết hydro với Guanin3 và Guanin4 (Hình 2d). Trong khi đó, nếu không có sự hiện diện của RNA, năng lượng liên kết tạo thành (-8.8 kcal/mol), yếu hơn so với có sự có mặt của RNA. Nhóm C28-carboxylate tạo thành liên kết hydro với ARG555. Có thể dễ dàng nhận thấy rằng, khi không có sự có mặt của RNA, T41 chỉ liên kết với ARG555. Trong khi đó khi có sự hiện diện của RNA đã tạo nhiều liên kết hydro hơn. Do đó, ái lực liên kết của T41 khi có sự hiện diện của RNA cao hơn so với không có RNA (Hình 3d). Cuối cùng, ursolic acid (T52) liên kết với RNA-RdRp có mức năng lượng liên kết (-10.2 kcal/mol). Có sự hình thành liên kết hydro giữa nhóm C3-hydroxyl với Guanine1 (Hình 2e). Khi không có sự hiện diện của RNA, T52 tương tác với RdRp có năng lượng liên kết (-9.3 kcal/mol). Liên kết hydro được hình thành giữa C28-carboxylate của T52 với ARG569 trên RdRp (Hình 3e).

Dựa trên những kết quả trên, tất cả các hợp chất pentacyclic triterpenoid trong nghiên cứu này được dự đoán có sự hình thành liên kết hydro với ít nhất một hoặc hai amino acid của các kênh xâm nhập NTP vào RdRp của Sars. Có thể giả định rằng, pentacyclic triterpenoid liên kết với các amino acid ở trung tâm hoạt động của enzyme, ngăn cản sự xâm nhập của RNA virus đồng thời ức chế sự tổng hợp mạch RNA mới. Remdesivir là một trong những loại thuốc đã được sử dụng trong điều trị Sars-CoV-2. Cơ chế cho sự ức chế này cũng tương tự như thuốc remdesivir, nhóm hydroxy ở đầu 5' của remdesivir hình thành liên kết cộng hóa trị với nhóm hydroxy ở đầu 3' của ribose trong chuỗi RNA (Yin & ctg., 2020). Khi nghiên cứu lắp ghép phân tử, Nguyen, Nguyen, Truong, và Li (2020) đã cho thấy Remdesivir tương tác với RdRp có năng lượng liên kết là -6.5 kcal/mol. Trong nghiên cứu của Patil và cộng sự (2021) trên loại thuốc molnupiravir bằng phương pháp lắp ghép phân tử ở RdRp có năng lượng liên kết -7.3 kcal/mol (Patil & ctg., 2021). Tóm lại, nghiên cứu này cho thấy tiềm năng của các hợp chất pentacyclic triterpenoid của *E. prostrata* có tác dụng tương tự và thậm chí tốt hơn so với các loại thuốc và các hợp chất chống lại Sars-CoV-2 được công bố trước đây. Nghiên cứu là cơ sở tạo tiền đề phát triển liệu pháp dược lý mới trong phòng và điều trị các bệnh do Sars-CoV-2 gây ra.

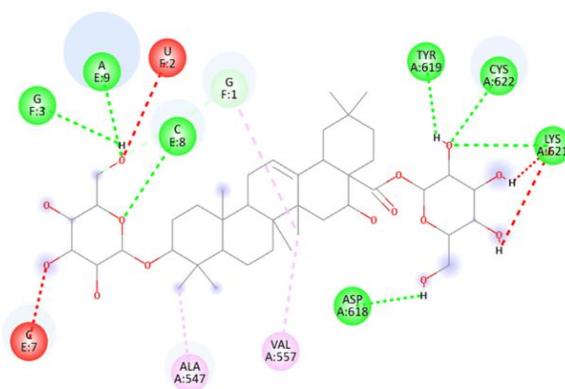
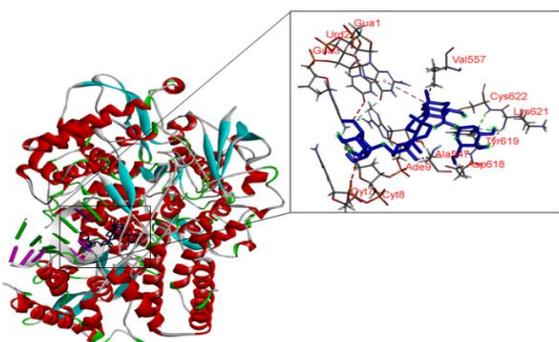
a) Echinocytis acid



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Unfavorable Acceptor-Acceptor
- Pi-Alkyl

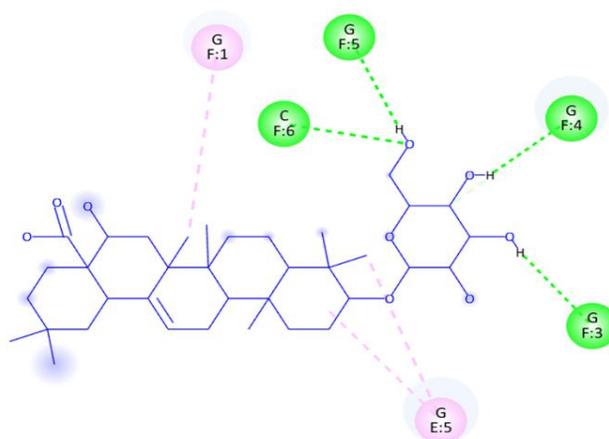
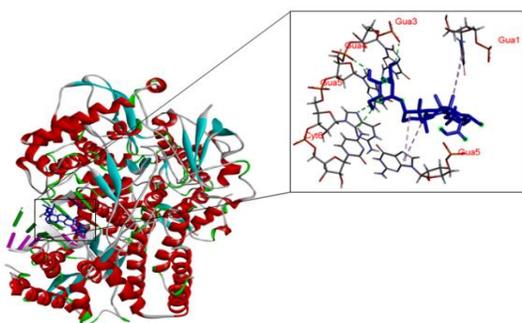
b) Eclalbasaponin I



Interactions

- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Unfavorable Donor-Donor
- Alkyl
- Pi-Alkyl

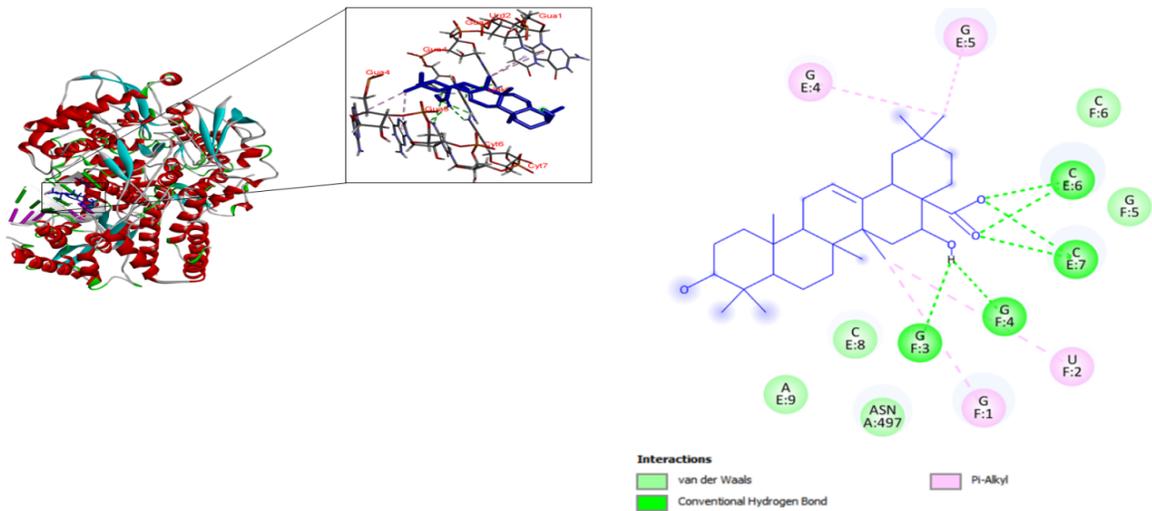
c) Ecliptasaponin A



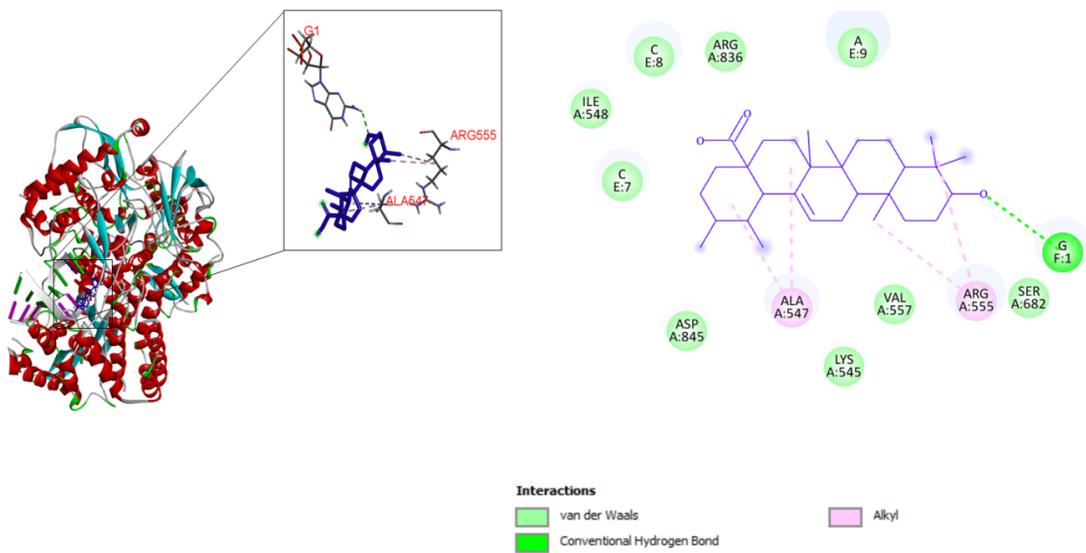
Interactions

- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Alkyl

d) Oleanolic acid

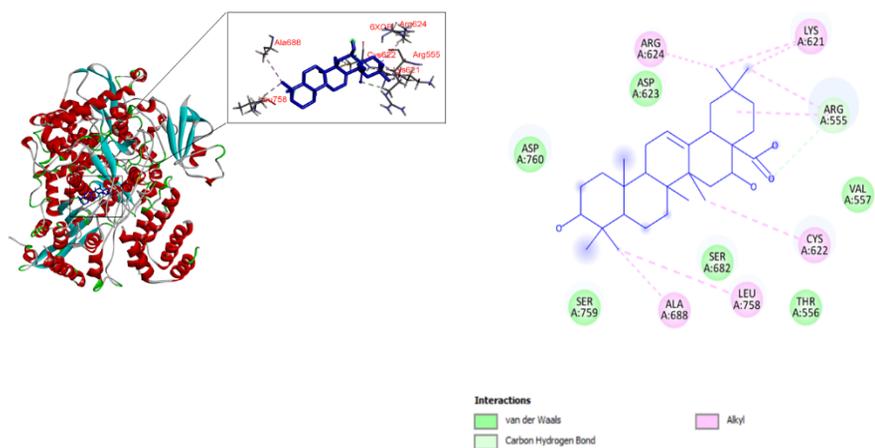


e) Ursolic acid

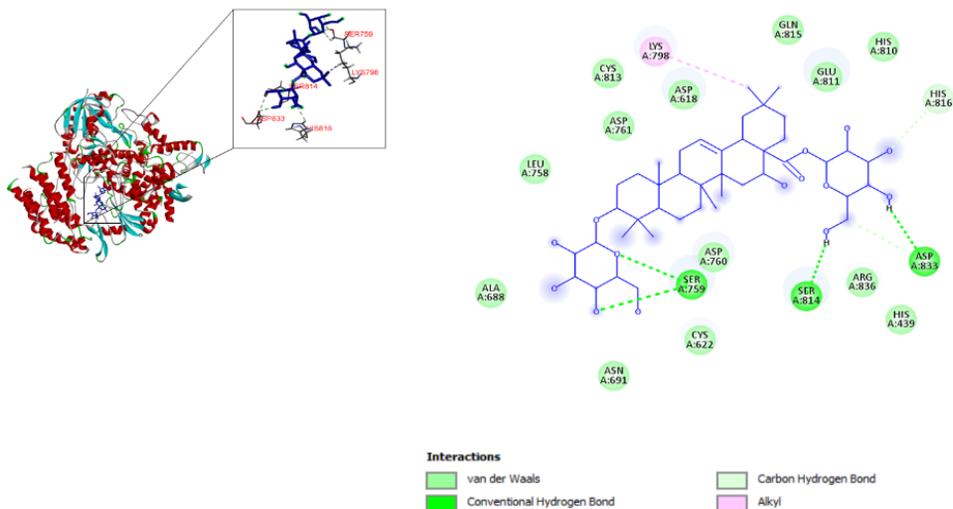


Hình 2. Tương tác của RNA-RdRp (PDB ID: 6XQB) với 05 phối tử có năng lượng tự do thấp nhất. a) Echinocytis acid, b) Eclalbasaponin I, c) Ecliptasaponin A, d) Oleanolic acid, e) Ursolic acid

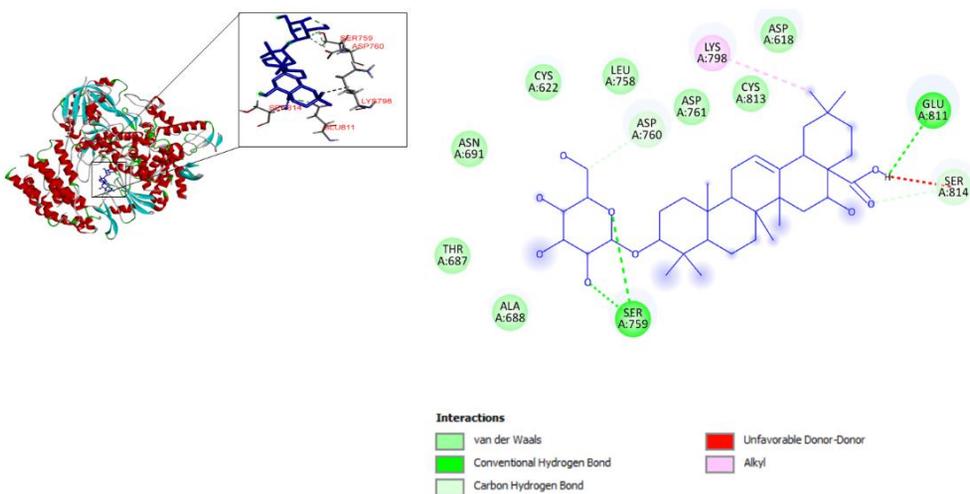
a) Echinocytis acid



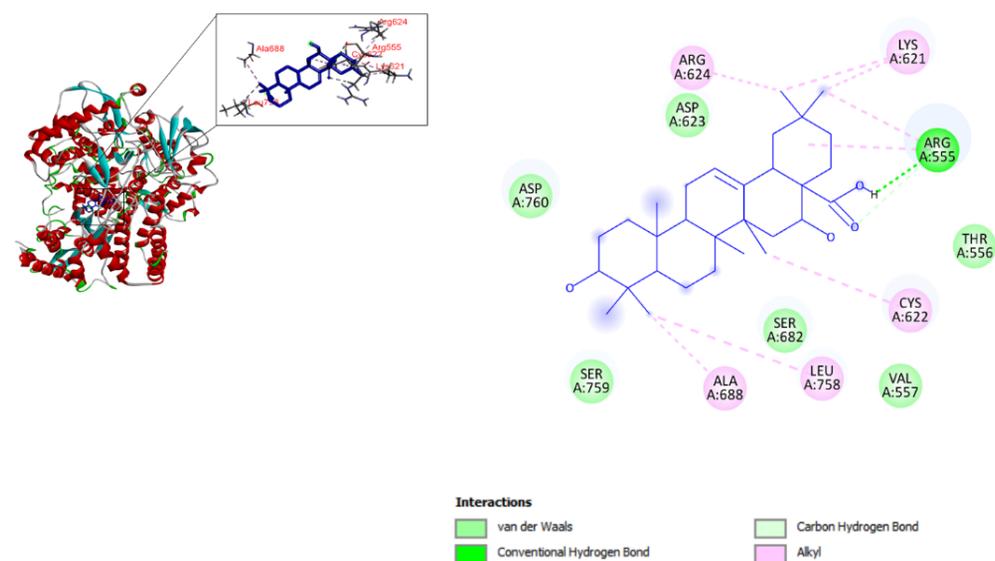
b) Eclalbasaponin I

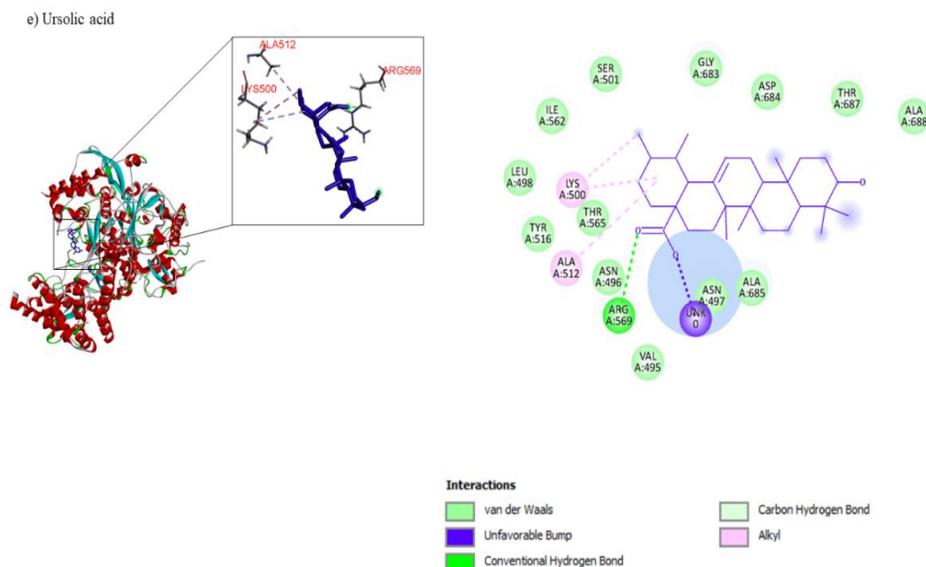


c) Ecliptasaponin A



d) Oleanolic acid





Hình 3. Tương tác của RdRp (PDB ID: 6XQB) với 05 phối tử có năng lượng tự do thấp nhất. a) Echinocytis acid, b) Eclalbasaponin I, c) Ecliptasaponin A, d) Oleanolic acid, e) Ursolic acid

Đánh giá dự đoán các thông số độc học và độc tính của phối tử

Để đánh giá các hợp chất nghiên cứu có ảnh hưởng đến con người. Mô hình đánh giá độc tính phân tử bằng công cụ SwissADME. Sự dự đoán về độc học của SwissADME được trình bày ở Bảng 2.

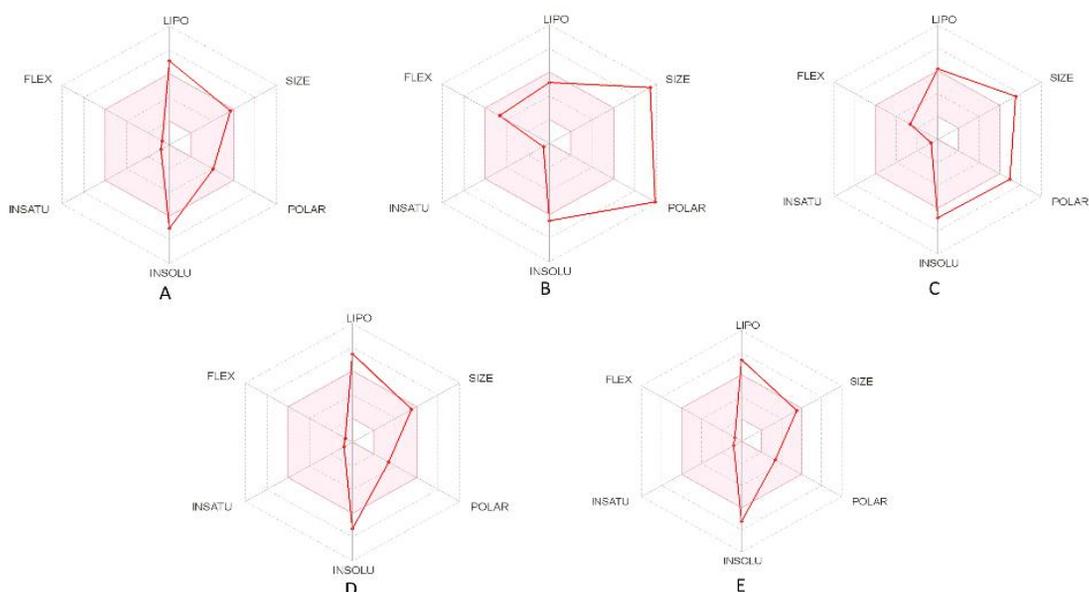
Bảng 2

Các đặc tính, thông số độc học của các phối tử tiềm năng

Thông số	T21	T22	T23	T41	T52
Physicochemical Parameters (Các thông số hóa lý)					
Khối lượng phân tử	472,70 g/mol	796,98 g/mol	634,84 g/mol	456,70 g/mol	456,70 g/mol
Số liên kết quay	1	7	4	1	1
Số lượng nguyên tử nhận liên kết hydro	4	14	9	3	3
Số lượng nguyên tử cho liên kết hydro	3	9	6	2	2
TPSA (Tổng diện tích bề mặt phân cực)	77.76 Å ²	236.06 Å ²	156.91 Å ²	57.53 Å ²	57.53 Å ²
Lipophilicity (Tính ưa béo)					
Log Po/w (iLOGP)	3.47	3.60	3.36	3.89	3.71
Log Po/w (WLOGP)	6.20	1.29	4.03	7.23	7.09
Log Po/w (SILICOS-IT)	4.96	0.82	2.89	5.85	5.46
Pharmacokinetics (Được động học)					
Hấp thu qua đường tiêu hóa	Cao	Thấp	Cao	Thấp	Thấp

Thông số	T21	T22	T23	T41	T52
Chất ức chế CYP1A2	Không	Không	Không	Không	Không
Chất ức chế CYP2C19	Không	Không	Không	Không	Không
Chất ức chế CYP2C9	Không	Không	Không	Không	Không
Chất ức chế CYP2D6	Không	Không	Không	Không	Không
Chất ức chế CYP3A4	Không	Không	Không	Không	Không
Water Solubility (Tính tan trong nước)					
Log S (ESOL)	-7.04	-6.51	-6.84	-7.32	-7.23
Tính tan	4.32e-05 mg/ml; 9.14e-08 mol/l	2.45e-04 mg/ml; 3.08e-07 mol/l	9.21e-05 mg/ml; 1.45e-07 mol/l	2.16e-05 mg/ml; 4.74e-08 mol/l	2.69e-05 mg/ml; 5.89e-08 mol/l
Nhóm	Tan ít	Tan ít	Tan ít	Tan ít	Tan ít
Log S (SILICOS-IT)	-5.30	-1.65	-3.50	-6.12	-5.67
Tính tan	2.37e-03 mg/ml; 5.02e-06 mol/l	1.80e+01 mg/ml; 2.25e-02 mol/l	2.03e-01 mg/ml; 3.20e-04 mol/l	3.45e-04 mg/ml; 7.55e-07 mol/l	9.72e-04 mg/ml; 2.13e-06 mol/l
Nhóm	Tan trung bình	Tan	Tan	Tan ít	Tan trung bình
Medicinal Chemistry (Hóa dược)					
Lipinski	Yes; 1 violation: MLOGP>4.15	No; 3 violations: MW>500, NorO>10, NHorOH>5	No; 2 violations: MW>500, NHorOH>5	Yes; 1 violation: MLOGP>4.15	Yes; 1 violation: MLOGP>4.15
Leadlikeness	No; 2 violations: MW>350, XLOGP3>3.5	No; 1 violation: MW>350	No; 2 violations: MW>350, XLOGP3>3.5	No; 2 violations: MW>350, XLOGP3>3.5	No; 2 violations: MW>350, XLOGP3>3.5
Bioavailability Score	0.56	0.17	0.11	0.85	0.85
PAINS	0 alert	0 alert	0 alert	0 alert	0 alert

Để đánh giá các thuộc tính khác nhau của ADME, bao gồm: dược động học, tính ưa béo, khả năng hòa tan trong nước và các thông số hóa lý. Các tính chất này đã được tính toán cho các phân tử tiềm năng và được trình bày trong Hình 4 và Bảng 2. Ngoài ra, sự ức chế của các phân tử đối với các enzyme Cytochrom P450 (CYP2D6, CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4) đã được kiểm tra. Kết quả cho thấy rằng trong số năm phân tử này, không có phân tử nào tương tác với các cytochromes P450. Cytochrome P450 ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa thuốc trong cơ thể, do đó việc không tương tác với các cytochrome này cho thấy các phân tử không bị tác động bởi quá trình oxy hóa diễn ra trong cơ thể (Bibi, 2008). Sự hấp thu qua đường tiêu hóa (GI) của các loại thuốc không chỉ phụ thuộc vào tính thấm của niêm mạc đường tiêu hóa mà còn phụ thuộc vào tốc độ vận chuyển trong đường tiêu hóa. Kết quả cho thấy T21 được hấp thu qua đường tiêu hóa cao nhất trong số các phân tử, trong khi các phân tử còn lại có hấp thu thấp hơn.



Hình 4. Phân tích tổng quát về các đặc điểm của các hợp chất A) T21, B) T22, C) T23, D) T41 và E) T52. Vùng màu hồng biểu thị cho vùng tối ưu cho từng thuộc tính. (Lipophilicity: XLOGP3 -0.7 – $+5.0$, Size: MW 150 - 500 g/mol, Polarity: TPSA 20-130 Å², Solubility: $\log S < 6$, Saturation: > 0.25 và Flexibility: < 9 liên kết)

Dựa vào kết quả Hình 4, cho thấy T22 là hợp chất có tính chất thấp nhất trong dược động học do có trọng lượng phân tử và độ phân cực cao hơn các hợp chất còn lại. Tiếp theo là $T23 < T21 < T41 < T52$. Tính ưa lipid (Lipophilicity) của các phân tử ứng cử viên thuốc là mối quan tâm chính trong việc phát triển các dạng bào chế của nó, bởi vì thuốc phải thâm nhập vào lớp đôi phospholipid của hầu hết các màng tế bào, bao gồm cả màng tế bào ruột. Do đó, để các phân tử hấp thu tốt qua tế bào ruột, thì thuốc phải có tính chất ưa chất béo. Dựa vào trọng lượng phân tử (MW) của các hợp chất cho thấy T21, T41, T52 đáp ứng yêu cầu về trọng lượng của các phân tử thuốc. Polarity (TPSA: Topological Polar Surface Area) thể hiện đặc tính của thuốc qua đường uống. Thông thường các loại thuốc uống được vận chuyển xuyên tế bào có TPSA không vượt quá 120 Å². Tương tự, đối với những thuốc xâm nhập tốt vào não, TPSA phải nhỏ hơn 100 Å² (Prasanna & Doerksen, 2009). Có thể thấy rằng mức độ vận chuyển xuyên tế bào tốt nhất lần lượt là $T52 > T41 > T21$. Tất cả các hợp chất này đều có TPSA nhỏ hơn 100 Å² nên có thể dễ dàng vận chuyển qua não. Solubility (tính tan): Các hợp chất đều có tính tan thấp, tính hòa tan tốt nhất lần lượt là $T22 > T23 > T21 > T52 > T41$. Saturation (INSATU) (Fraction of carbons in the sp³ hybridization): Độ bão hòa cho phép hình thành các phân tử có cấu trúc phức tạp hơn và mở rộng tính linh hoạt về cấu trúc của các hợp chất mà không làm tăng đáng kể trọng lượng phân tử. Kết quả Hình 4 cho thấy tất cả các hợp chất đều có $F_{sp3} > 0.25$. Flexibility: thể hiện cho tính linh động các liên kết của các hợp chất, dựa vào Hình 4 cho thấy các hợp chất đều có độ linh động thấp. Sự sắp xếp về độ linh động của liên kết thấp nhất lần lượt là: $T41 \leq T52 < T21 < T23 < T22$.

Tóm lại: dựa vào biểu đồ Radar dự đoán cho thấy các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt, có thể sử dụng được qua đường uống.

4. Kết luận

Trong công trình này, chúng tôi đã sàng lọc được các chất ức chế tiềm năng mới của RdRp đối với virus Sars-CoV-2 (PDB ID: 6XQB) như là một phương án điều trị Covid-19.

Những hợp chất này được thiết kế từ cơ sở dữ liệu đã biết từ các hợp chất khác nhau có trong *E. prostrata*. Từ những thử nghiệm sàng lọc ảo được thực hiện ở đây, chúng tôi đã chọn ra được 05 hợp chất: Echinocytis acid, eclalbasaponin I, ecliptasaponin A, oleanolic acid, ursolic acid có khả năng ức chế hoạt tính enzyme RdRp, từ đó có khả năng làm giảm sự nhân bản của Sars-CoV-2. Các tính chất dược động học ADME/Tox của các hợp chất đã được tính toán và giới thiệu ở đây đã cho thấy tính chất dược động học và độc tính còn tốt hơn và phù hợp hơn các loại thuốc đang được thử nghiệm với Covid-19. Kết quả này hứa hẹn tiềm năng điều trị Covid-19 trong tương lai. Nghiên cứu này cho thấy tiềm năng ứng dụng các hợp chất tự nhiên từ y học cổ truyền trong việc phòng ngừa và điều trị Covid-19. *E. prostrata* từ lâu đã được sử dụng nhiều trong nền y học cổ truyền của nước ta, đặc biệt là các tỉnh ở Đồng bằng sông Cửu Long nói chung và tỉnh Trà Vinh nói riêng. Nghiên cứu làm sáng tỏ vai trò của các hợp chất tiềm năng có thể ứng dụng trong thực tiễn, đặc biệt có thể phát triển dễ dàng ở những vùng nông thôn.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn Ủy ban nhân dân tỉnh Trà Vinh, Sở Khoa học và Công nghệ, Hội Đông y tỉnh Trà Vinh đã cùng chúng tôi hợp tác nghiên cứu và giúp đỡ tạo điều kiện tốt nhất để hoàn thành đề tài “Nghiên cứu đa dạng nguồn tài nguyên cây thuốc nam và xây dựng mô hình vườn thuốc nam bản địa tại tỉnh Trà Vinh” (theo hợp đồng số: 07/HĐ-SKH-CN).

Tài liệu tham khảo

- Alghamdi, H. A., Attique, S. A., Yan, W., Arooj, A., Albulym, O., Zhu, D., ... Nawaz, M. Z. (2021). Repurposing the inhibitors of Covid-19 key proteins through molecular docking approach. *Process Biochemistry*, 110, 216-222.
- Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Negm, W. A., Alexiou, A., & Batiha, G. E.-S. (2022). Ursolic acid and Sars-CoV-2 infection: A new horizon and perspective. *Inflammopharmacology*, 30(5), 1493-1501.
- Bibi, Z. (2008). Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutrition & Metabolism*, 5, 1-10.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
- Feng, L., Zhai, Y.-Y., Xu, J., Yao, W.-F., Cao, Y.-D., Cheng, F.-F., ... Zhang, L. (2019). A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Eclipta prostrata* (L.) L. *Journal of Ethnopharmacology*, 245, 1-14.
- Huey, R., & Morris, G. M. (2006). *Using autodock with autodocktools: A tutorial*. La Jolla, CA: The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory, Department of Molecular Biology the Scripps Research Institutes.
- Nguyen, L. H., Nguyen, T. Q., Truong, T. D., & Li, M. S. (2020). Remdesivir strongly binds to both RNA-dependent RNA polymerase and main protease of Sars-CoV-2: Evidence from molecular simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 124(50), 11337-11348.
- Orders, M. (2021). An EUA for Tocilizumab (Actemra) for Covid-19. *Medical Letter on Drugs and Therapeutics*, 63(1629), 113-114.

- Patil, S. M., Maruthi, K., Bajpe, S. N., Vyshali, V., Sushmitha, S., Akhila, C., & Ramu, R. (2021). Comparative molecular docking and simulation analysis of molnupiravir and remdesivir with Sars-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp). *Bioinformation*, 17(11), 932-939.
- Prasanna, S., & Doerksen, R. (2009). Topological polar surface area: A useful descriptor in 2D-QSAR. *Current Medicinal Chemistry*, 16(1), 21-41.
- Shan, J.-z., Xuan, Y.-y., Zheng, S., Dong, Q., & Zhang, S.-z. (2009). Ursolic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of HT-29 colon cancer cells by inhibiting the EGFR/MAPK pathway. *Journal of Zhejiang University Science B*, 10(9), 668-674.
- Shu, B., & Gong, P. (2016). Structural basis of viral RNA-dependent RNA polymerase catalysis and translocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(28), E4005-E4014.
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C., Zhou, J., ... Gao, G. F. (2016). Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends in Microbiology*, 24(6), 490-502.
- Subbaiyan, A., Ravichandran, K., Singh, S. V., Sankar, M., Thomas, P., Dhama, K., ... Chaudhuri, P. (2020). In silico molecular docking analysis targeting Sars-CoV-2 spike protein and selected herbal constituents. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(Suppl 1), 989-998.
- Tang, B., Bragazzi, N. L., Li, Q., Tang, S., Xiao, Y., & Wu, J. (2020). An updated estimation of the risk of transmission of the novel coronavirus (2019-nCov). *Infectious Disease Modelling*, 5, 248-255.
- Trinh, C. T., Giang, D. H., Tran, D. T., Nguyen, H. Q., Nguyen, P., & Hoang, H. T. (2018). Wedelolactone from Vietnamese *Eclipta prostrata* (L) L. protected zymosan-induced shock in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 17(2), Article 653.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461.
- Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., & Tan, W. (2020). Detection of Sars-CoV-2 in different types of clinical specimens. *Jama*, 323(18), 1843-1844.
- Worldometer. (2023). Truy cập ngày 10/10/2022 tại <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
- Yang, Y., Li, C., Liu, N., Wang, M., Zhou, X., Kim, I. H., & Wu, Z. (2021). Ursolic acid alleviates heat stress-induced lung injury by regulating endoplasmic reticulum stress signaling in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 89, 1-8.
- Yin, W., Mao, C., Luan, X., Shen, D.-D., Shen, Q., Su, H., ... Gao, M. (2020). Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from Sars-CoV-2 by remdesivir. *Science*, 368(6498), 1499-1504.

