

IDENTIFICATION OF MPRO POTENTIAL INHIBITORS OF SARS-COV-2 FROM THE DATABASE OF VIETNAM HERB DERIVED COMPOUNDS BY VIRTUAL SCREENING

Ta Ngọc Ly*, Nguyen Thi Anh Thu

University of Science and Technology - University of Da Nang

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 26/10/2021 Revised: 20/12/2021 Published: 28/12/2021	The study focused on screening for compounds derived from Vietnam herbs that are potential binding to the protein SARS-CoV-2 Mpro - a protein that plays an important role in the replication of the SARS-CoV-2. The library of 320 compounds from 121 species of Vietnamese herbs underwent screening processes for protein binding energy, pharmacokinetic properties, and interaction by bioinformatics tools. The three most potential compounds were screened including Pyranoamento flavone, Celastrol and Pomolic acid, passing the five Lipinski rules and strong interactions with target proteins. The findings suggested the identified compounds may serve as potential leads that act as COVID-19 Mpro inhibitors, worthy for further evaluation and development.
KEYWORDS Virtual screening Herb Mpro Natural compound SARS-CoV-2 COVID-19	

XÁC ĐỊNH CHẤT ỨC CHẾ TIỀM NĂNG MPRO CỦA SARS-COV-2 TỪ CƠ SỞ DỮ LIỆU CÁC HỢP CHẤT CÓ NGUỒN GỐC THẢO MỘC VIỆT NAM BẰNG CÁCH SÀNG LỌC ẢO

Ta Ngọc Ly*, Nguyễn Thị Anh Thu

Trường Đại học Bách Khoa Đà Nẵng - ĐH Đà Nẵng

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 26/10/2021 Ngày hoàn thiện: 20/12/2021 Ngày đăng: 28/12/2021	Nghiên cứu nhằm sàng lọc các hợp chất có nguồn gốc từ thảo mộc có khả năng kháng protein SARS-CoV-2 Mpro - là protein có vai trò quan trọng trong việc nhân lên của virus SARS-CoV-2. Thư viện gồm 320 hợp chất có nguồn gốc từ 121 loài thảo dược được sàng lọc thông qua năng lượng liên kết, thuộc tính dược độc học và tương tác phân tử bằng các công cụ tin sinh học. Ba hợp chất tiềm năng nhất là Pyranoamento flavone, Celastrol, Pomolic acid thể hiện ái lực cao với Mpro, đáp ứng năm quy tắc Lipinski và tương tác phân tử tốt với protein mục tiêu. Các phát hiện cho thấy rằng, các hợp chất được xác định có thể đóng vai trò là các chất dẫn tiềm năng hoạt động như chất ức chế COVID-19 Mpro, đáng được đánh giá và phát triển thêm.
TỪ KHÓA Sàng lọc ảo Thảo dược Mpro Hợp chất tự nhiên SARS-CoV-2 COVID-19	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5206>

* Corresponding author. Email: tnly@dut.udn.vn

1. Giới thiệu

SARS-CoV-2 là 1 β -corona virus nhóm 2b gây hội chứng hô hấp cấp tính nặng có tên là COVID-19, xuất hiện lần đầu tiên vào tháng 12 năm 2019, trong đợt bùng phát đại dịch COVID-19 ở thành phố Vũ Hán (Trung Quốc) và bắt đầu lây lan nhanh chóng, sau đó trở thành một đại dịch toàn cầu [1]. Bộ gen virus SARS-CoV-2 là một ARN sợi đơn dương bao gồm khoảng 30.000 nucleotide, chiếm 82% trình tự tương tự với SARS-CoV [2]. SARS-CoV-2 chứa 4 loại protein không cấu trúc: protease giống papain (PLpro) và 3-chymotrypsin (Mpro, 3CLpro), RNA polymerase và helicase. Mpro phân cắt các polyprotein của virus, tạo ra 12 protein không cấu trúc (từ Nsp4 đến Nsp16), bao gồm RNA polymerase phụ thuộc RNA (RdRp, Nsp12) và helicase (Nsp13) [3], [4]. Các protein không cấu trúc nsp4 - nsp16 này chịu trách nhiệm sao chép và phiên mã bộ gen của virus. Ngoài ra, Mpro đóng vai trò như một phân tử có chức năng sinh học trong việc hạn chế tín hiệu kháng virus interferon I [5], làm giảm đáp ứng miễn dịch ở người. Do đó, việc ức chế Mpro có thể ngăn chặn hiệu quả quá trình sao chép và phiên mã RNA của virus là một chiến lược chống virus quan trọng.

Những tác động tàn phá nặng nề của đại dịch COVID-19 đối với sức khỏe cộng đồng và nền kinh tế toàn cầu đã đặt ra yêu cầu cấp bách về việc chế tạo vaccine và khám phá các loại thuốc để ngăn ngừa và điều trị căn bệnh này. Mặc dù có hơn 20 loại vaccine đã được thử nghiệm lâm sàng và cấp phép, vẫn còn nhiều thách thức để đạt được hiệu quả tiêm chủng trên toàn cầu, chẳng hạn như hạn chế về sản xuất, yêu cầu bảo quản, giá cả và tính đặc hiệu của vaccin. Đặc biệt, sự xuất hiện của các biến chủng SARS-CoV-2 có khả năng lây lan nhanh và có nguy cơ làm giảm hiệu quả của các vaccin hiện có. Vì vậy, việc gấp rút nghiên cứu, tìm ra các loại thuốc kháng virus nhằm khống chế dịch bệnh là một hướng tiếp cận cần thiết và là một nhu cầu cấp thiết.

Khám phá thuốc dựa trên sàng lọc ảo (VS – Virtual Screening) là một trong những chiến lược hiệu quả có thể giúp ích trong lĩnh vực phát minh và phát triển các loại thuốc mới. Hiện tại, các chiến lược được sử dụng để tìm các loại thuốc trong điều trị COVID-19 tập trung vào (i) protein hoặc enzyme sinh tổng hợp từ virus, tham gia con đường xâm nhiễm và nhân lên của virus, chẳng hạn như protease chính (Mpro) và RNA polymerase phụ thuộc RNA (RdRp); (ii) các mục tiêu vật chủ hoặc virus, chẳng hạn như vùng liên kết thụ thể (RBD) và enzym chuyển đổi angiotensin II (ACE2). Một số nghiên cứu gần đây sử dụng công cụ tin sinh học và sàng lọc ảo đã chỉ ra được một số hợp chất tiềm năng trong kháng virus SARS-CoV-2 từ các cơ sở dữ liệu thuốc được cấp phép của FDA hoặc từ sàng lọc qua con đường tín hiệu [6], [7] hoặc từ một số hợp chất tự nhiên [8]-[10].

Việt Nam được biết đến như là quốc gia của thảo mộc với hơn 5000 loại thực vật và nắm có công dụng làm thuốc [11]. Do đó, thảo mộc Việt Nam là một nguồn tiềm năng có thể khai thác để giải quyết nhu cầu tìm ra hợp chất làm thuốc kháng SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 đã lây lan rộng trên toàn thế giới và gây ra một mối đe dọa thực sự nghiêm trọng đối với sức khỏe con người. Cho đến nay, vẫn chưa có biện pháp hữu hiệu nào để kiểm soát dịch COVID-19. Việc phát triển các loại thuốc chống SARS-CoV-2 đã trở thành một công việc cấp bách trên toàn thế giới. Nghiên cứu này có mục đích áp dụng phương pháp VS để xác định các chất ức chế protease Mpro tiềm năng được truy xuất từ cơ sở dữ liệu các hợp chất có nguồn gốc thảo mộc, dự đoán các tính chất giống thuốc, hấp thụ, phân phối, chuyển hóa bài tiết và độc tính (ADMET - Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity) để sàng lọc ra các chất ức chế mới có thể được sử dụng như các chất dẫn tiềm năng để điều trị liên quan đến bệnh do nhiễm corona virus.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Xây dựng thư viện các hợp chất có khả năng ức chế virus từ các loại thảo mộc Việt Nam

Thư viện hợp chất có khả năng kháng virus từ thảo mộc được chọn thông qua các nghiên cứu đã có trước đây. Các nguồn được sử dụng để tìm kiếm các nghiên cứu là NCBI, Nature,

ScienceDirect, Europe PMC, Hindawi, MDPI. Cấu trúc của các chất được lấy từ cơ sở dữ liệu Pubchem, định dạng sdf, lưu trữ tạo thành thư viện hợp chất.

2.2. Chuẩn bị protein

Cấu trúc tinh thể của protease chính Mpro trong phức hợp với chất ức chế được lấy từ Ngân hàng dữ liệu protein (PDB ID: 6LU7). Đồng yếu tố và các phân tử nước đã được loại bỏ, và hydro được thêm vào bằng cách sử dụng Discovery studio.

2.3. Sàng lọc ảo và gắn kết phân tử

Việc sàng lọc ảo được thực hiện bằng AutoDock Vina. Các tệp được sử dụng bao gồm protein được chuyển đổi từ *pdb* sang *pdbqt* và tệp *Config.txt* được tạo bao gồm tất cả thông tin cần thiết cho VS bằng ADT, các cấu hình khác được coi là mặc định. AutoDock 4.2 đã được sử dụng trong quá trình lắp ghép; tham số lưới trung tâm được chỉ định là 60-60-60 cho các trục x-, y- và z, tương ứng với khoảng cách 0,375 Å và nằm ở trung tâm của vị trí đang hoạt động. Một trăm lần chạy độc lập đã được thực hiện cho mỗi thử nghiệm lắp ghép. Năng lượng liên kết thấp nhất được chọn cho mỗi cấu trúc.

2.4. Dự đoán tính chất dược động học của các hợp chất tiềm năng

Sau khi dự đoán được năng lượng liên kết giữa protein và hợp chất, chọn được 13 hợp chất có năng lượng liên kết thấp nhất. Tiến hành dự đoán độc học, dược học của 13 hợp chất này bằng công cụ PreADMET có địa chỉ (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) và SwissADME tại địa chỉ <http://www.swissadme.ch/index.php>.

2.5. Kiểm tra tương tác giữa protein và hợp chất bằng công cụ PLIP

Công cụ PLIP (<https://projects.biotech.tu-dresden.de/plip-web/plip>) được sử dụng mô tả và kiểm tra tương tác giữa protein và hợp chất.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Xây dựng thư viện các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế virus từ các loại thảo mộc Việt Nam

Sử dụng từ khóa “antiviral + plant + natural compound”, chúng tôi tiến hành tìm kiếm trên các cơ sở dữ liệu lớn trên thế giới, sau đó chọn lọc các công bố có liên quan đến thực vật và kiểm tra sự phân bố của thực vật đó ở Việt Nam dựa trên cơ sở dữ liệu của Trung tâm dữ liệu thực vật Việt Nam (<http://www.botanyvn.com/cnt.asp?param=edir&list=species>). Kết quả đã tập hợp và xây dựng thành công thư viện gồm 320 hợp chất có khả năng kháng virus từ dược liệu là thực vật Việt Nam.

Từ thư viện trên cho thấy, các nghiên cứu về kháng virus từ hợp chất tự nhiên trên các đối tượng virus DNA phổ biến như virus gây viêm gan B, virus Herpes Simplex (HSV-1), virus gây u nhú Human papillomavi (HPV) và các loại virus RNA như virus gây hội chứng suy giảm miễn dịch người (HIV), virus cúm, virus viêm gan C, viêm gan A và virus gây bệnh chân tay miệng, virus Zika (ZIKV), virus Dengue (DENV), virus sốt vàng da (YFV), viêm não Nhật Bản, virus West Nile (WNV) và đặc biệt là đã có nhiều nghiên cứu về khả năng kháng virus họ Corona như Sars-Cov-2 của thực vật.

Khả năng kháng virus của hợp chất tự nhiên được xác định là nhờ các cơ chế: (i) chống lại sự xâm nhập của virus; (ii) ức chế sự phiên mã, nhân lên và giải phóng virus; (iii) nhắm mục tiêu liên quan đến tế bào đích của vật chủ. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra khả năng kháng virus qua sự tăng cường hệ miễn dịch, tăng cường quá trình tự chết tế bào [12], [13]. Ngoài ra, một số hợp chất còn thể hiện khả năng kháng virus phổ rộng như Pandanin [14], Punicalagin [15], Celastrolin [16]. Các chất có ảnh hưởng đến các chức năng của tế bào, tính thấm của màng và sự nhân lên của virus đã được phát hiện bao gồm: coumarin, flavonoid, terpenoid, hợp chất organosulfur,

lignans, polyphenol, saponin, protein và peptit có hoạt tính sinh học. Đặc biệt, steroid và triterpenes có nhiều các đặc tính kháng vi-rút tiềm năng như kháng vi-rút HSV-1, viêm gan B, viêm gan C, HIV1 và 2 [17], [8]. Danh sách các hợp chất và nguồn dược liệu kháng virus có thể tham khảo ở Phụ lục 1.

3.2. Sàng lọc các hợp chất tự nhiên có khả năng gắn kết với protein Mpro của Sars-CoV-2

Công cụ Autodock Vina 4.2 được sử dụng để dự đoán năng lượng liên kết giữa protein và các hợp chất trong thư viện. Tổng cộng 320 hợp chất đã được sàng lọc, 13 hợp chất có ái lực cao nhất với protein đích được lựa chọn để tiếp tục kiểm tra tính chất động học và dược học (Bảng 1). Năng lượng liên kết được dự đoán thấp nhất là của Pyranoamentoflavone với mức năng lượng -11,6 kcal/mol. Đây là mức năng lượng rất thấp, thấp hơn năng lượng liên kết của một số nghiên cứu trước đó với đối tượng hợp chất từ biển [18] (-9,87), từ các thuốc được chấp thuận bởi FDA [19] (-8,7).

Bảng 1. Năng lượng liên kết dự đoán của 13 hợp chất tiềm năng với Mpro

Tên hợp chất	Năng lượng liên kết với SARS- CoV-2 Mpro (kcal/mol)
Procyanidin B1	-11,0
Procyanidin B5	-11,1
Pyranoamentoflavone	-11,6
Amentoflavone	-10,8
Robustaflavone	-11
Methyl 8,8a-dihydromorellate	-10,6
Maytenfolone A	-10,5
Celastrol	-10,5
Cannabisin A	-10,6
Rhusflavanone	-10,5
Pomolic acid	-10,4
Beta-Amyrin	-10,3
Isomorellic acid	-10,3

3.3. Dự đoán tính chất dược động học của các hợp chất tự nhiên có khả năng gắn kết với protein Mpro của Sars-CoV-2

Các hợp chất có ái lực cao với Mpro tiếp tục được đánh giá tính chất dược động học. Sử dụng công cụ SwissADME và PreADMET, tính chất động học, dược học của 13 hợp chất tiềm năng được dự đoán như trong bảng 2 và bảng 3.

Bảng 2. Kết quả dự đoán tính chất dược động học của hợp chất bằng công cụ SwissADME

STT	Tên hợp chất	ID Pubchem	Công cụ SwissADME										
			Tính chất hóa lý						Hệ số Log Po/w	Khả năng hòa tan trong nước	Tính tương tự thuốc		
			MW (g/mol)	NRB	HBA	HBD	MR	TPSA			Lipinski	Veber	Muegge
1	Procyanidin B1	11250133	578.52	3	12	10	146.71	220.76	1.37	Vừa phải	0	0	0
2	Procyanidin B5	124017	578.52	3	12	10	146.71	220.76	1.53	Vừa phải	0	0	0
3	Pyranoamentoflavone	21582613	604.56	3	10	5	169.07	170.8	4.79	Kém	0	0	0
4	Amentoflavone	5281600	538.46	3	10	6	146.97	181.8	3.62	Kém	0	0	0
5	Robustaflavone	5281694	538.46	3	10	6	146.97	181.8	3.62	Kém	0	0	0
6	Methyl 8,8a-dihydromorellate	45268013	576.68	6	8	1	158.85	108.36	4.95	Kém	1	1	0
7	Maytenfolone A	11798592	470.68	0	4	1	134.73	63.6	5.28	Kém	1	1	0
8	Celastrol	122724	450.61	1	4	2	131.29	74.6	5.12	Kém	1	1	0
9	Cannabisin A	15086398	549.61	11	8	8	166.1	179.58	3.82	Kém	0	0	0
10	Rhusflavanone	466314	542.49	3	10	6	142.14	173.98	3.2	Kém	0	0	0
11	Pomolic acid	382831	472.7	1	4	3	138.11	77.6	5.14	Kém	1	1	0
12	beta-Amyrin	73145	426.72	0	1	1	134.88	20.23	7.18	Kém	1	1	0
13	Isomorellic acid	9915833	560.63	5	8	2	154.06	119.36	4.69	kém	1	1	0

Bảng 3. Kết quả dự đoán tính chất dược động học của hợp chất bằng công cụ PreADMET

STT	Tên hợp chất	ID Pubchem	Công cụ PreADMET							
			Dự đoán ADME				Dự đoán độc tính			
			Liên kết với protein huyết tương (%)	Sự xâm nhập của rào cản máu não ([Não]/[Máu])	Sự hấp thụ đường ruột của người (%)	Tính thấm của tế bào Caco2 (nm/sec)	Độc tính Ames	Sự ức chế gen hERG	Khả năng gây ung thư đối với chuột cống	Khả năng gây ung thư đối với chuột nhắt
1	Procyanidin B1	11250133	100	0.0649419	19.510403	13.6793	không	cao	không	có
2	Procyanidin B5	124017	100	0.0557739	19.506944	12.8789	không	cao	không	có
3	Pyranooamentoflavone	21582613	100	0.272184	89.802066	10.1414	không	trung bình	không	không
4	Amentoflavone	5281600	100	0.118254	81.199369	12.8731	có	trung bình	không	không
5	Robustoflavone	5281694	100	0.122688	81.196398	12.0431	có	trung bình	không	không
6	Methyl 8,8a-dihydromorellate	45268013	90.158354	0.049021	97.679992	33.3155	không	trung bình	không	không
7	Maytenfolone A	11798592	100	2.922	96.048263	23.2782	không	thấp	không	có
8	Celastronol	122724	100	0.981247	96.426675	21.2536	không	thấp	không	không
9	Cannabisisin A	15086398	96.609388	0.268511	80.415155	20.8995	có	trung bình	có	có
10	Rhusflavanone	466314	100	0.130071	78.604152	11.0796	không	trung bình	có	có
11	Pomolic acid	382831	98.520583	2.8481	94.276898	21.4097	không	thấp	không	không
12	beta-Amyrin	73145	100	21.25	100	46.75	không	thấp	không	không
13	Isomeric acid	9915833	90.19666	0.024678	98.282034	14.092	có	trung bình	có	không

Từ bảng 2 và 3, có 4 hợp chất là Maytenfolone A, Celastronol, Pomolic acid, Beta-amyrin có khối lượng phân tử < 500 g/mol và 4 hợp chất này đều có tính giống thuốc theo nguyên tắc của Lipinski. Số liên kết quay được ở các hợp chất hầu như rất ít, chỉ có 2 hợp chất là Methyl 8,8a-dihydromorellate và Cannabisisin A có số liên kết quay > 5. Hệ số Log Po/w lý tưởng nằm trong khoảng 1,35 - 1,8. Theo bảng 2, chỉ có 2 hợp chất nằm trong khoảng này là procyanidin B1 và procyanidin B5. Khả năng hòa tan trong nước của 13 hợp chất chỉ nằm trong khoảng tan vừa đến kém tan, đây cũng chính là nhược điểm của 13 hợp chất này. Tỷ lệ liên kết với protein huyết tương của các hợp chất là rất cao (hơn 90%), điều này cho thấy rằng nếu các hợp chất này được chọn để làm thuốc thì tác dụng đối với cơ thể sẽ rất chậm mặc dù sự hấp thu qua đường ruột đều ở mức cao (ngoại trừ 2 hợp chất procyanidin B1, procyanidin B5) và tính thấm tế bào Caco2 ở mức vừa phải. Do đó, đây là tính chất cần được quan tâm và cải thiện nếu đưa các hợp chất này vào việc phát triển thuốc. Có 4/13 chất được dự đoán có khả năng gây độc tính Ames. Khả năng ức chế gen hERG phân bố từ thấp đến cao với 13 hợp chất. Có 2 hợp chất được dự đoán có khả năng gây ung thư ở cả chuột nhắt và chuột đồng là Cannabisisin A và Rhusflavanone.

3.4. Thảo luận

Để xếp hạng các hợp chất tiềm năng, các tiêu chí đánh giá được cho điểm theo thang điểm như trong Phụ lục 2. Kết quả chấm điểm 13 hợp chất tiềm năng được thể hiện trong Bảng 4. Các hợp chất có điểm số cao nhất bao gồm: Pyranooamentoflavone, Maytenfolone A, Celastronol và Pomolic acid. Hợp chất Maytenfolone A có bằng chứng gây ung thư chuột nhắt nên không tiếp tục xem xét.

Hợp chất Pyranooamentoflavone có năng lượng liên kết với SARS-CoV-2 3CL pro là -11,6, điều này chứng tỏ phức hợp Mpro- Pyranooamentoflavone sẽ rất bền vững. Pyranooamentoflavone và protein Mpro có 9 tương tác kỵ nước và 4 liên kết hydro. Hợp chất có khả năng được hấp thu tốt qua đường ruột, không có độc tính Ames và đã được chứng minh không gây ung thư cho chuột nhắt và chuột đồng. Tuy nhiên, hợp chất này kém tan trong nước, chưa đạt nguyên tắc Lipinski (không có tính giống thuốc) và khả năng liên kết với protein là tối đa nên tác dụng đối với cơ thể sẽ còn chậm. Amentoflavone là thành phần của cây Bạch quả (*Ginkgo biloba* L). Các cây khác như *Chamaecyparis obsusa* (họ Hoàng đàn) và cây Ban âu (*Hypericum perforatum* L. và cây Mù u (*Calophyllum inophyllum* L.) cũng được biết là có chứa các hợp chất này. Đặc biệt nghiên cứu của Ryu và cộng sự cho thấy, Amentoflavone có trong cây thông trắng (*Torreya nucifera* (L.) ức chế SARS-CoV Mpro [10] bằng cách ức chế chất ức chế cathepsin B và virus cúm NA. Một hợp chất tương tự khác là Biflavone amentoflavone được xác định là chất ức chế Mpro mạnh thông qua lắp ráp phân tử [10].

Bảng 4. Điểm đánh giá 13 hợp chất tiềm năng sàng lọc từ thư viện các hợp chất tự nhiên

STT	Tên hợp chất	ID Pubchem	Binding energy	Công cụ SwissADME						Công cụ APreADMET								TỔNG ĐIỂM
				Tính ưa béo	Khả năng hòa tan trong nước	Tính chất tương tự thuốc			Dự đoán ADME				Dự đoán độc tính					
						Lipinski	Veber	Muegge	Liên kết với protein huyết tương (%)	Sự xâm nhập của rào cản máu não [Não] / [Máu]	Sự hấp thụ đường ruột của người (%)	Tính thấm của tế bào Caco2 (nm²/sec)	Độc tính Ames	Sự ức chế gen hERG	Khả năng gây ung thư đối với chuột cống	Khả năng gây ung thư đối với chuột nhà		
Hệ số Log Po/w																		
1	Procyanidin B1	11250133	11	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	
2	Procyanidin B5	124017	12	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	
3	Pyranocamentoflavone	21582613	13	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	1	1	1	2	
4	Amentoflavone	5281600	10	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	1	1	1	1	
5	Robustiflavone	5281694	11	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	1	1	1	1	
6	Methyl 8,8a-dihydromorellate	45268013	9	0	0	1	1	0	0	0	2	1	1	1	1	1	1	
7	Maytenolone A	11798592	8	0	0	1	1	0	0	2	2	1	1	2	1	0	1	
8	Celastrin	122724	8	0	0	1	1	0	0	1	2	1	1	2	1	1	1	
9	Cannabidin A	15086398	9	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	1	0	0	1	
10	Rhusflavone	466314	8	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	1	0	0	1	
11	Pomolic acid	382831	7	0	0	1	1	0	0	2	2	1	1	2	1	1	1	
12	beta-Amyrin	73145	6	0	0	1	1	0	0	2	2	1	1	2	1	1	1	
13	Isomorellin acid	9915833	6	0	0	1	1	0	0	0	2	1	0	1	0	1	1	

Mô hình tương tác giữa Pyranoamentoflavone và Mpro được thể hiện trong hình 1 và bảng 5.

**Hình 1.** Mô hình tương tác giữa Pyranoamentoflavone và SARS-CoV-2 Mpro

Nghiên cứu gắn kết phân tử của Pyranoamentoflavone và SARS-CoV-2 Mpro bằng AutoDock Vina, biểu diễn bằng PyMOL. (Trái) Chế độ liên kết với Pyranoamentoflavone (màu tím) được gắn kết vào SARS-CoV-2 Mpro (màu xanh lá cây). (Phải) Tương tác của gốc axit amin với Pyranoamentoflavone bằng liên kết kỵ nước (màu xanh) và liên kết hydro (màu vàng) thực hiện bằng PLIP và biểu diễn trong PyMOL.

Bảng 5. Vị trí và đặc điểm tương tác giữa Pyranoamentoflavone và SARS-CoV-2 Mpro

Số TT	Vị trí đơn phân	Axit amin	Khoảng cách (Å)	Loại tương tác
1	3266	PHE	3,65	Kị nước
2	3268	LYS	3,75	Kị nước
3	3545	LEU	3,38	Kị nước
4	3549	LEU	3,82	Kị nước
5	3551	GLU	3,50	Kị nước
6	3553	GLU	3,98	Kị nước
7	3268	LYS	3,07	Hydro
8	3400	LYS	3,2	Hydro
9	3470	TRP	3,68	Hydro
10	3550	LEU	2,44	Hydro

Hợp chất pomolic acid có năng lượng liên kết với SARS-CoV-2 3CL pro là -10,4, có 6 tương tác kỵ nước và 2 liên kết hydro (Hình 2, Bảng 6). Hợp chất này được dự đoán không có độc tính Ames, hấp thụ tốt qua đường ruột, sự ức chế gen hERG ở mức thấp, không gây ung thư ở chuột

đồng, chuột nhà và có đặc tính giống thuốc theo nguyên tắc của Lipinski. Pomolic acid là một triterpenoid loại ursane pentacyclic và được coi là dẫn xuất 9-hydroxy của axit ursolic. Đây là hợp chất được tìm thấy trong cây Hương nhu tía (*Ocimum sanctum*), cây Hoàn ngọc (*Hemigraphis glaucescens*) ở Việt Nam. Pomolic acid và hợp chất tương tự nó như axit oleanolic, axit ursolic được báo cáo là có hoạt tính kháng virus HIV, virus viêm gan B và C [76]. Pomolic acid được trích ly từ *Rosa woodsia* (*Rosaceae*) và *Hyptis capitata* (*Labiatae*). Các nghiên cứu cho thấy axit pomolic cũng có thể làm giảm chứng phù chân do carrageenan ở chuột, điều này cho thấy hoạt động chống viêm mạnh và ức chế sản xuất interleukin-1 β in vivo.



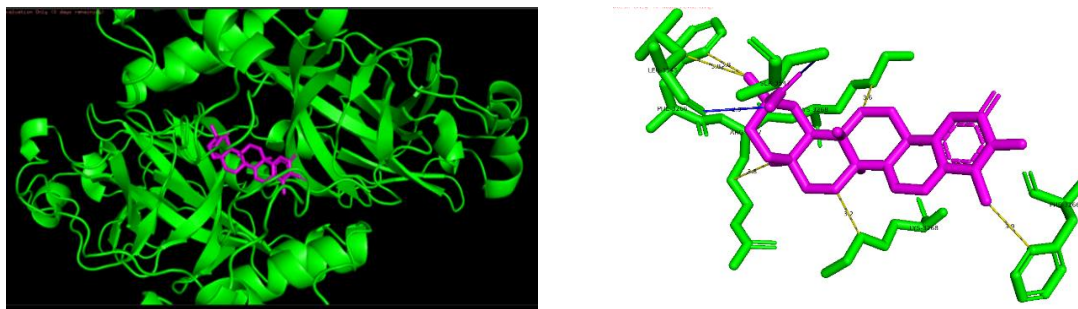
Hình 2. Mô hình tương tác giữa Pomolic acid và SARS-CoV-2 Mpro

Nghiên cứu gắn kết phân tử của Pomolic acid và SARS-CoV-2 Mpro bằng AutoDock Vina, biểu diễn bằng PyMOL. (Trái) Chế độ liên kết với Pomolic acid (màu tím) được gắn kết vào SARS-CoV-2 Mpro (màu xanh lá cây). (Phải) Tương tác của gốc axit amin với Pomolic acid bằng liên kết kị nước (màu xanh) và liên kết hydro (màu vàng) thực hiện bằng PLIP và biểu diễn trong PyMOL.

Bảng 6. Vị trí và đặc điểm tương tác giữa Pomolic acid và SARS-CoV-2 Mpro

Số TT	Vị trí đơn phân	Axit amin	Khoảng cách (Å)	Loại tương tác
1	3266	PHE	3,40	Kị nước
2	3268	LYS	3,72	Kị nước
3	3545	LEU	3,62	Kị nước
4	3551	GLU	3,3	Kị nước
5	3554	PHE	3,58	Kị nước
6	3470	TRP	2,37	Hydro

Hợp chất Celastrol có năng lượng liên kết với SARS-CoV-2 3CL pro là -10,5, có 6 tương tác kị nước và 2 liên kết hydro (Hình 3, Bảng 7). Được dự đoán có khả năng hấp thu tốt qua đường ruột, không có độc tính Ames, không có bằng chứng gây ung thư ở chuột đồng, chuột nhà và có tính giống thuốc theo nguyên tắc Lipinski. Celastrol được phát hiện là một trong những loại thuốc phù hợp nhất có thể hạn chế sự giải phóng các hạt virion và sự tiết IL-6 của các tế bào bị nhiễm SARS-CoV-2. Hiện tại, cả nghiên cứu tính toán và thực nghiệm đã chứng minh những phát hiện của một nghiên cứu trước đây, nghiên cứu này đã khẳng định tính hiệu quả của celastrol như một loại thuốc mạnh để điều trị COVID-19 [9]. Hợp chất Celastrol được tìm thấy ở cây Dây gỏi tròn (*Celastrus orbiculatus*), Thanh giang đẳng (*Celastrus Hindsii*), Lôi công thẳng (*Tripterygium wilfordii*). Cơ chế được lý của celastrol là kháng viêm thông qua ức chế các cytokine tiền viêm như IL-6, IL8 và MCP-1, làm giảm đáng kể sự phosphoryl hóa của con đường NF- κ B [20]. Celastrol đã được nghiên cứu về hoạt động ức chế của SARS-CoV-2 3CLpro. Celastrol đã được báo cáo có khả năng ức chế SARS-CoV Mpro hơn 70% ở 30 μ g/ mL. Celastrol hoạt động như một chất ức chế SARS-CoV Mpro vì cấu trúc của quinone-methide triterpenes có tác dụng chống viêm.



Hình 3. Mô hình tương tác giữa Celastrol và SARS-CoV-2 Mpro

Nghiên cứu gắn kết phân tử của Celastrol và SARS-CoV-2 Mpro bằng AutoDock Vina, biểu diễn bằng PyMOL. (Trái) Chế độ liên kết với Celastrol (màu tím) được gắn kết vào SARS-CoV-2 Mpro (màu xanh lá cây). (Phải) Tương tác của gốc axit amin với Celastrol bằng liên kết kỵ nước (màu xanh) và liên kết hydro (màu vàng) thực hiện bằng PLIP và biểu diễn trong PyMOL.

Bảng 7. Vị trí và đặc điểm tương tác giữa Pomolic acid và SARS-CoV-2 Mpro

Số TT	Vị trí đơn phân	Axit amin	Khoảng cách (Å)	Loại tương tác
1	3266	PHE	3,76	Kị nước
2	3267	ARG	3,56	Kị nước
3	3268	LYS	3,64	Kị nước
4	3545	LEU	3,58	Kị nước
5	3545	LEU	1,0	Hydro
6	3547	SER	3,40	Hydro
7	3470	TRP	3,68	Hydro

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, VS và phân tích tương tác phân tử đã được áp dụng thành công trong việc xác định các chất ức chế đối với Mpro của SARS-CoV-2. Ba hợp chất là Pyranoamentoflavone, Pomolic acid, Celastrol thể hiện ái lực cao với Mpro. Ba hợp chất này cũng đáp ứng qua quy tắc 5 của Lipinski và có khả năng là thuốc hoạt động bằng đường uống. Các hợp chất trên được tìm thấy trong chiết xuất của các loài thảo dược có ở Việt Nam, do đó có tiềm năng khai thác để chế tạo thuốc kháng virus SARS-CoV-2 ngăn ngừa bệnh COVID-19. Việc áp dụng VS và gắn kết phân tử có thể làm giảm đáng kể chi phí tổng hợp và sản xuất thuốc, đồng thời cung cấp bằng chứng cho các tương tác của hợp chất đã xác định với Mpro đích. Tuy nhiên, để có thể áp dụng trong thực tế, cần thiết thực hiện các nghiên cứu thực nghiệm (*in vitro* và *in vivo*) để xác nhận tác động của các hợp chất này trong việc điều trị bệnh do SARS-CoV-2 gây ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] M. Johnson, "Wuhan 2019 Novel Coronavirus - 2019-nCoV," *Mater. Methods*, vol. 10, no. January, pp. 1-5, 2020, doi: 10.13070/mm.en.10.2867.
- [2] M. I. Khan *et al.*, "Comparative genome analysis of novel coronavirus (SARS-CoV-2) from different geographical locations and the effect of mutations on major target proteins: An in silico insight," *PLoS One*, vol. 15, no. 9 September, pp. 1-18, 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0238344.
- [3] M. Tahir ul Qamar, S. M. Alqahtani, M. A. Alamri, and L. L. Chen, "Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants," *J. Pharm. Anal.*, vol. 10, no. 4, pp. 313-319, 2020, doi: 10.1016/j.jpha.2020.03.009.
- [4] S. Ullrich and C. Nitsche, "The SARS-CoV-2 main protease as drug target," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 30, no. 17, p. 127377, 2020, doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127377.
- [5] Y. Wu *et al.*, "Main protease of SARS-CoV-2 serves as a bifunctional molecule in restricting type I interferon antiviral signaling," *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 5, no. 1, p. 221, 2020, doi: 10.1038/s41392-020-00332-2.

- [6] Z. Jin *et al.*, "Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors," *Nature*, vol. 582, no. 7811, pp. 289-293, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2223-y.
- [7] W. Rut *et al.*, "SARS-CoV-2 Mpro inhibitors and activity-based probes for patient-sample imaging," *Nat. Chem. Biol.*, vol. 17, no. 2, pp. 222-228, 2021, doi: 10.1038/s41589-020-00689-z.
- [8] N. H. Shady *et al.*, "Sterols and triterpenes: Antiviral potential supported by in-silico analysis," *Plants*, vol. 10, no. 1, pp. 1-34, 2021, doi: 10.3390/plants10010041.
- [9] C. A. Fuzo *et al.*, "Drug repurposing to face Covid-19: Celastrol, a potential leading drug capable of inhibiting SARS-CoV-2 replication and induced inflammation," *bioRxiv*, vol. 6, p. 2021.04.20.439992, 2021.
- [10] Y. B. Ryu *et al.*, "Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CLpro inhibition," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 22, pp. 7940-7947, 2010, doi: 10.1016/j.bmc.2010.09.035.
- [11] T. L. Do, *Vietnamese medicinal plants and herbs*. Medicine Publishing House, (In Vietnamese), 2004.
- [12] L. C. Chiang, W. Chiang, M. Y. Chang, L. T. Ng, and C. C. Lin, "Antiviral activity of *Plantago* major extracts and related compounds in vitro," *Antiviral Res.*, vol. 55, no. 1, pp. 53-62, 2002, doi: [https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(02\)00007-4](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(02)00007-4).
- [13] V. Barak, T. Halperin, and I. Kalickman, "The effect of Sambucol, a black elderberry-based, natural product, on the production of human cytokines: I. Inflammatory cytokines," *Eur. Cytokine Netw.*, vol. 12, no. 2, pp. 290-296, 2001.
- [14] L. S. M. Ooi, S. S. M. Sun, and V. E. C. Ooi, "Purification and characterization of a new antiviral protein from the leaves of *Pandanus amaryllifolius* (Pandanaceae)," *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 36, no. 8, pp. 1440-1446, Aug. 2004, doi: 10.1016/j.biocel.2004.01.015.
- [15] D. Angamuthu, I. Purushothaman, S. Kothandan, and R. Swaminathan, "Antiviral study on *Punica granatum* L., *Momordica charantia* L., *Andrographis paniculata* Nees, and *Melia azedarach* L., to Human Herpes Virus-3," *Eur. J. Integr. Med.*, vol. 28, pp. 98-108, 2019, doi: 10.1016/j.eujim.2019.04.008.
- [16] C.-K. Tseng, S.-P. Hsu, C.-K. Lin, Y.-H. Wu, J.-C. Lee, and K.-C. Young, "Celastrol inhibits hepatitis C virus replication by upregulating heme oxygenase-1 via the JNK MAPK/Nrf2 pathway in human hepatoma cells," *Antiviral Res.*, vol. 146, pp. 191-200, 2017, doi: 10.1016/j.antiviral.2017.09.010.
- [17] T. Rezanka and K. Sigler, "Sterols and Triterpenoids with Antiviral Activity," *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, vol. 8, no. 3, pp. 193-210, 2009, doi: 10.2174/187152109788680207.
- [18] N. M. Tam *et al.*, "Potential inhibitors for SARS-CoV-2 Mpro from marine compounds," *RSC Adv.*, vol. 11, no. 36, pp. 22206-22213, 2021, doi: 10.1039/D1RA03852D.
- [19] A. El Aissouq, O. Chedadi, M. Bouachrine, and A. Ouammou, "Identification of Novel SARS-CoV-2 Inhibitors: A Structure-Based Virtual Screening Approach," *J. Chem.*, vol. 2021, p. 1901484, 2021, doi: 10.1155/2021/1901484.
- [20] J. Zhang, K. Zhou, X. Zhang, Y. Zhou, Z. Li, and F. Shang, "Celastrol Ameliorates Inflammation in Human Retinal Pigment Epithelial Cells by Suppressing NF- κ B Signaling," *J. Ocul. Pharmacol. Ther. Off. J. Assoc. Ocul. Pharmacol. Ther.*, vol. 35, no. 2, pp. 116-123, Mar. 2019, doi: 10.1089/jop.2018.0092.