

Tiềm năng và ứng dụng Berberine trong phòng chống Covid-19

Lê Thị Bích Phượng¹, Ngô Võ Kế Thành², Phan Văn Tiến³

¹Bệnh viện Đa khoa Vạn Hạnh

²Trung tâm Nghiên cứu triển khai Khu Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh

³Công ty TNHH Thương mại Bách Thu

Đại dịch Covid-19 đã gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe, chất lượng cuộc sống của người dân trên toàn thế giới và vẫn chưa có dấu hiệu thuyên giảm. Các phương pháp điều trị Covid-19 được áp dụng trong thời gian qua chủ yếu là điều trị triệu chứng, và hiện các quốc gia vẫn đang nỗ lực nghiên cứu thử nghiệm các loại thuốc đặc trị chuyên biệt đối với loại virus này. Dựa trên các cơ chế xâm nhiễm của SARS-CoV-2 thông qua thụ thể ACE2 và TMPRSS2 trên tế bào vật chủ, nhiều hướng tiếp cận được đưa ra nhằm mở hướng đi mới trong phòng ngừa và điều trị Covid-19 trước khi đạt được miễn dịch cộng đồng. Trong đó, Berberine (BBr) - một alkaloid có nguồn gốc từ thực vật được đánh giá là một ứng cử viên tiềm năng trong việc ngăn chặn sự lây lan và nhân lên của virus SARS-CoV-2. BBr giữ vai trò là chất đối kháng cạnh tranh của SARS-CoV-2 với thụ thể ACE2 trên tế bào vật chủ. Bên cạnh đó, với hoạt tính kháng viêm và kháng virus, BBr hỗ trợ thải loại virus và bảo vệ mô phổi trước những tổn thương gây ra bởi đáp ứng miễn dịch quá mức ở bệnh nhân Covid-19..., mở ra một hướng mới về áp dụng dược liệu BBr trong phòng chống đại dịch này.

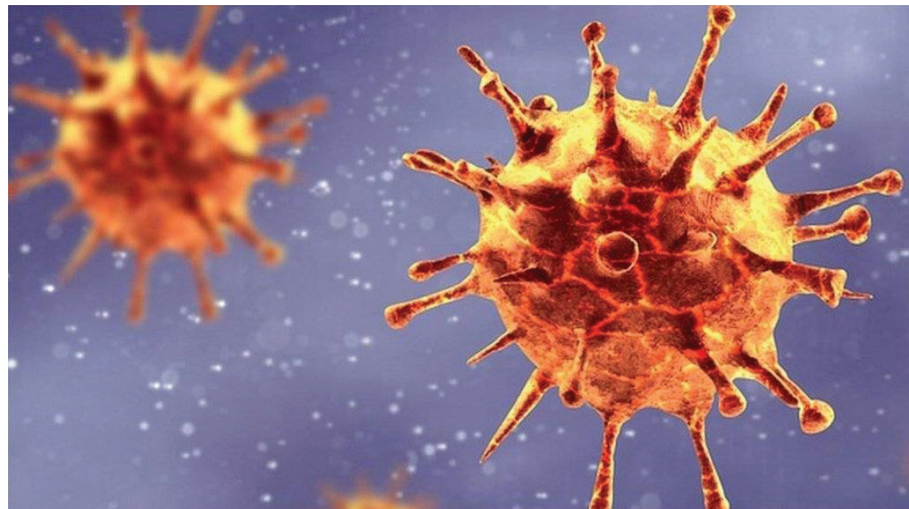
Chiến lược tiếp cận trong phòng và điều trị Covid-19

Covid-19 là hội chứng viêm đường hô hấp cấp, gây ra bởi virus Corona, hay còn gọi là SARS-CoV-2. Tính đến ngày 31/10/2021, đã có hơn 246 triệu ca mắc Covid-19 trên toàn thế giới, trong đó số ca tử vong lên đến hơn 5,0 triệu người^{*}, và những con số này vẫn chưa có dấu hiệu dừng lại, gây ảnh hưởng đến sức khỏe và kinh tế toàn cầu.

SARS-CoV-2 thuộc họ Betacoronavirus, nhóm 2, có cấu trúc RNA sợi đơn với màng bao ngoài. Cơ quan đích của SARS-CoV-2 là phổi, gây nên hội chứng viêm đường hô hấp như đã được công bố trong nhiều báo cáo. Tuy nhiên, để xâm nhập được đến phổi

(cơ quan thuộc hệ hô hấp dưới) thì SARS-CoV-2 phải trải qua quá trình xâm nhập và lây nhiễm ở đường hô hấp trên, cụ thể là khoang mũi và miệng.

SARS-CoV-2 lây nhiễm các tế bào biểu mô trong khoang mũi và miệng thông qua liên kết giữa các protein S trên bề mặt SARS-CoV-2 và thụ thể ACE2 trên tế bào niêm



Virus Corona đã và đang gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe và chất lượng cuộc sống của người dân trên toàn thế giới (ảnh BBC).

*Covid-19.gov.vn.

mạc vật chủ [1]. Protease xuyên màng serine 2 (TMPRSS2) nằm trên màng tế bào có vai trò thúc đẩy sự xâm nhập của virus vào tế bào bằng cách kích hoạt các protein S [2].

Sau khi xâm nhập, chúng giải phóng bộ gen RNA vào tế bào chất và nhờ bộ máy của vật chủ để tiến hành sao chép vật liệu di truyền cho virus mới. Đồng thời, quá trình tổng hợp protein cấu trúc và các thành phần phụ khác cũng diễn ra trong tế bào vật chủ nhằm chuẩn bị cho sự lắp ráp và đóng gói thành các virus mới. Các virus mới sau khi được tổng hợp sẽ xuất ra ngoài thông qua quá trình xuất bào. Sau đó, virus lây lan xuống đường hô hấp dưới và lây nhiễm vào tế bào phế nang loại II (AT2) ở phổi, nơi nhiễm trùng nặng có thể dẫn đến hội chứng suy hô hấp cấp tính [3].

Trong phổi, ACE2 chủ yếu được biểu hiện ở các tế bào biểu mô AT2. Một số tế bào khác cũng biểu hiện ACE2, bao gồm tế bào biểu mô phế nang loại I (AT1), tế bào biểu mô đường thở, nguyên bào sợi, tế bào nội mô và đại thực bào [4]. Sự biểu hiện của ACE2 ở cơ quan này mở ra con đường xâm nhiễm của SARS-CoV-2 và gây ra các đáp ứng miễn dịch tại phổi.

Một đáp ứng miễn dịch quá mức là dấu hiệu cho một phản ứng viêm quá mức với sự tăng cao nồng độ các cytokine và chemokine trong huyết thanh như IL-1 β , IL-2, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, G-CSF, GM-CSF... Hiện tượng này tạo nên một “cơn bão cytokine”, gây tổn thương đến mô phổi: phù phổi, suy phổi và hội chứng suy hô hấp cấp (ARDS); tổn thương đa cơ quan như gan, tim và thận [5].

Hiện chưa có phương pháp điều trị cụ thể cho Covid-19. Các phương pháp điều trị hiện nay chủ

yếu là điều trị triệu chứng. Việc phát triển các biện pháp phòng ngừa và điều trị hiệu quả Covid-19 là một nhu cầu cấp thiết. Thông qua những hiểu biết về cơ chế lây nhiễm của SARS-CoV-2, các chiến lược tiếp cận tiềm năng để ngăn ngừa và điều trị Covid-19 được đưa ra bao gồm:

Sử dụng vắc xin dựa trên protein Spike: DNA/RNA thông tin chứa dịch mã cho protein S được đưa vào tế bào, các tế bào sau đó sẽ biểu hiện các protein S trên vỏ tế bào và dẫn đến phản ứng miễn dịch.

Ức chế hoạt động của TMPRSS2: SARS-CoV-2 sử dụng TMPRSS2 trên tế bào vật chủ để kích hoạt protein S, dẫn đến sự xâm nhập của virus thông qua thụ thể ACE2. Thuốc Camostat mesylate (được phê duyệt ở Nhật Bản để điều trị viêm tụy mạn tính) đã được chứng minh là ngăn chặn hoạt động của TMPRSS2 [1], và đây có thể là một ứng viên tiềm năng.

Cung cấp ACE2 dạng hòa tan quá mức: ACE2 dạng hòa tan quá mức có thể liên kết cạnh tranh với SARS-CoV-2, giúp vô hiệu hóa được virus và giải phóng hoạt động của ACE2 trong tế bào, bảo vệ phổi tránh khỏi tổn thương. ACE2 tái tổ hợp người (rhACE2) được chứng minh là an toàn và không có tác dụng phụ ở bệnh nhân ARDS và người tình nguyện khỏe mạnh. Hơn nữa, việc truyền rhACE2 có xu hướng làm giảm nồng độ IL-6 ở bệnh nhân ARDS [6].

Chặn thụ thể ACE2: Ức chế tương tác giữa virus SARS-CoV-2 và ACE2 bởi một số hợp chất có tác dụng cạnh tranh là một lĩnh vực nghiên cứu mới để đối phó với virus này.

Hiện có nhiều nghiên cứu, từ

in vitro đến in vivo và thử nghiệm trên lâm sàng đang được triển khai theo các chiến lược tiếp cận trên. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi tập trung mô tả kết quả nghiên cứu của chiến lược chặn thụ thể ACE2 bằng dược liệu BBr và thông tin về các ứng dụng của BBr trong phòng ngừa và điều trị Covid-19.

BBr và cơ chế chống lại virus SARS-CoV-2

BBr là một alkaloid thuộc nhóm isoquinoline được chiết xuất từ các loại cây thuộc chi Berberis, Hydrastis canadensis, Coptis với hàm lượng khoảng 1,5-3% [7]. BBr đã được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền để trị các bệnh đường ruột, gan mật, ngoài da... BBr đã thu hút được sự chú ý trong những năm gần đây do mang đặc tính kháng khuẩn, nấm, virus, tế bào ung thư và viêm [8-10]. Hiện BBr đã được chứng minh lâm sàng là một phương pháp điều trị tiềm năng đối với các bệnh như tiêu chảy, đái tháo đường, tim mạch, tăng cholesterol máu, gan nhiễm mỡ, hội chứng buồng trứng đa nang, ung thư [11, 12].

Nói về hoạt động kháng virus trong các nghiên cứu trước đây, BBr đã cho thấy khả năng kháng lại virus cúm A, viêm gan B và C, virus hợp bào hô hấp (RSV), herpes simplex (HSV)... [10, 13]. Mới đây, hoạt động chống virus SARS-CoV-2 của BBr trên dòng tế bào biểu mô mũi đã được công bố bởi Varghese và cộng sự (2021) [14] cho thấy BBr có hiệu quả trong việc ức chế virus này với giá trị EC₅₀ là 10,7 μ M. Kết quả này chỉ ra rằng, BBr ức chế hiệu quả sự sao chép của SARS-CoV-2 trên mô hình tế bào biểu mô mũi người.

BBr có độc tính thấp, tuy nhiên khi sử dụng với liều cao nó có thể gây ra các tác dụng phụ trên

đường tiêu hóa [10]. Với tính chất không tan trong nước, tính sinh khả dụng và tỷ lệ hấp thu thấp nên việc ứng dụng BBr vẫn còn hạn chế. Một trong những cách tiếp cận để giải quyết vấn đề này là làm giảm kích thước hạt, trong đó các phân tử BBr được điều chế thành các hạt có kích thước nanomet. Yu và cộng sự (2017) [15] đã nghiên cứu chế tạo hệ nano Polyetylen glycol - lipid - poly(lactide-co-glycolide) (PEG-lipid-PLGA NPs) làm chất mang BBr với kích thước khoảng 200 nm để ứng dụng trong thuốc dạng uống cho thấy tính sinh khả dụng được nâng cao đáng kể.

Gần đây, nano BBr được chỉ ra như một chất đối kháng tiềm năng của SARS-CoV-2 với thụ thể ACE2 của vật chủ. ACE2 tồn tại chủ yếu trên niêm mạc miệng, họng và tế bào biểu mô AT2. Việc chặn biểu hiện thụ thể ACE2 chính là cắt giảm con đường xâm nhiễm của virus SARS-CoV-2.

Nghiên cứu của Wang và cộng sự (2021) [16] đã chỉ ra 2 ảnh hưởng của nano BBr đến hoạt động của SARS-CoV-2: i) Ức chế sự lây nhiễm và nhân lên của SARS-CoV-2; ii) Ức chế sự biểu hiện của các cytokine tiền viêm, từ đó giúp bảo vệ mô phổi tránh khỏi những tình trạng tổn thương.

BBr ức chế sự lây nhiễm và nhân lên của SARS-CoV-2: nghiên cứu ức chế sự lây nhiễm và nhân lên của SARS-CoV-2 trên dòng tế bào biểu mô phổi Calu3 được ủ trong môi trường chứa BBr với các nồng độ 20 và 40 µg/ml (đối chứng DMSO) cho thấy, ở nồng độ 20 và 40 µg/ml BBr đã ức chế đáng kể nồng độ virus SARS-CoV-2 cũng như giảm sự biểu hiện của ACE2 và TMPRSS2. Cả 2 nồng độ đều không gây độc tính trên tế bào. Kết quả này đã chứng minh rằng BBr có khả năng ức chế sự lây nhiễm

và nhân lên của SARS-CoV-2 trên tế bào biểu mô phổi Calu3 in vitro.

BBr ức chế sự biểu hiện của cytokine gây viêm trên dòng tế bào biểu mô phổi người bị nhiễm SARS-CoV-2: các cytokine tiền viêm như IL-6, IL-1α/β, TNF-α, IL-8 và MCP-1 (CCL2) thúc đẩy mức độ nghiêm trọng và tổn thương mô ở những bệnh nhân Covid-19 [17]. Phân tích tổng hợp gần đây cho thấy tỷ lệ IL-6/IFN-γ cao có liên quan đến các trường hợp Covid-19 nghiêm trọng [18]. BBr được chứng minh làm giảm sản xuất cytokine gây viêm bao gồm IL-6, IL-8, IL-1α và CCL2 trong các tế bào biểu mô phổi bị nhiễm SARS-CoV-2. Đồng thời, BBr cũng làm tăng sản xuất INF-γ, cần thiết cho hệ miễn dịch để chống lại SARS-CoV-2.

Wang và cộng sự [16] đã ghi nhận được sự giảm biểu hiện đáng kể các cytokine tiền viêm: IL-1α, IL-8, IL-6, MCP-1 (CCL2) ở nhóm BBr (20 µg/ml) so với nhóm chứng dương tế bào nhiễm SARS-CoV-2. Kết quả này một lần nữa khẳng định hoạt tính kháng viêm của BBr.

Cơ chế kháng viêm của BBr được biết trong các nghiên cứu trước đây là thông qua sự hoạt hóa của protein kinase kích hoạt AMP (AMPK) và ức chế NF-κB. NF-κB là một protein liên kết DNA cần thiết trong quá trình phiên mã các gen khác nhau liên quan đến việc kiểm soát các quá trình tế bào, đặc biệt là các phản ứng viêm và miễn dịch. Trong quá trình lây nhiễm, các protein SARS-CoV nsp1, nsp2, nsp7, spike thúc đẩy hoạt hóa NF-κB. BBr điều chỉnh giảm sự hoạt hóa NF-κB do virus gây ra và ngăn chặn sự suy thoái của chất ức chế NF-κB nội sinh IκBα, do đó có thể hoạt động như một tác nhân kháng virus [10, 16].

Hoạt động chống viêm của BBr

còn có ý nghĩa trong việc giúp mô tổn thương tránh một phản ứng viêm quá mức. Đây là tình trạng các tế bào miễn dịch tiết quá mức các cytokine gây viêm, tạo nên một cơn bão cytokine gây bất thường và diễn tiến nặng ở bệnh nhân Covid-19.

Có thể thấy, hoạt động chống SARS-CoV-2 của BBr diễn ra ở cả giai đoạn trước khi xâm nhiễm, giai đoạn xâm nhiễm và tấn công của virus. Điều này cho thấy BBr phù hợp cho cả chiến lược phòng ngừa và điều trị cần được nghiên cứu sâu hơn.

Ứng dụng BBr trong phòng chống Covid-19

Trên thế giới, hiện nay đã có một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng về hiệu quả của BBr đến chức năng đường ruột và các chất trung gian gây viêm ở bệnh nhân Covid-19 diễn tiến nặng (NCT04479202). Đối tượng thử nghiệm là viên nén *Berberine hydrochloride* sử dụng qua đường uống. Hiện nay thử nghiệm đang ở pha 4 và các báo cáo chưa được xuất bản.

Tại Việt Nam, BBr đã được ứng dụng trong sản phẩm nước súc miệng họng kháng khuẩn có tên thương mại là “Nước súc miệng Asin”. Sản phẩm được nghiên cứu và phát triển bởi Trung tâm Nghiên cứu triển khai Khu Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh. Nước súc miệng Asin đã ứng dụng công nghệ nano trong điều chế BBr với kích thước hạt dưới 100 nm. Điều này giúp cho khả năng phân tán và tính sinh khả dụng của BBr được nâng cao đáng kể.

SARS-CoV-2 xâm nhập vào cơ quan đích là phổi. Tuy nhiên, để xâm nhập vào phổi, chúng cần phải xâm nhiễm qua hàng rào bảo vệ bên ngoài là khoang miệng, họng và khoang mũi.

Với tình hình dịch bệnh vẫn còn đang diễn biến phức tạp, ngoài việc tuân thủ quy tắc 5K mà Bộ Y tế khuyến cáo (khẩu trang, khử khuẩn, không tụ tập, khai báo y tế, khoảng cách), việc bảo vệ vòm họng là hết sức cần thiết bởi đây là lá chắn cuối cùng đối với sự xâm nhập của virus SARS-CoV-2.

Các tế bào niêm mạc mũi, miệng và vòm họng cũng biểu hiện thụ thể ACE2 và TMPRSS2 giúp cho quá trình xâm nhiễm của SARS-CoV-2 thông qua protein S được thực hiện dễ dàng. Nước súc miệng Asin chứa BBr được xem là chiến lược sử dụng chất đối kháng cạnh tranh với SARS-CoV-2 trên các thụ thể ACE2 nên có khả năng hạn chế được sự lây nhiễm của SARS-CoV-2. Hơn nữa, BBr còn đóng vai trò là một chất kháng virus, giúp loại bỏ và ngăn ngừa sự xâm nhiễm của SARS-CoV-2 tại khoang miệng và hầu họng. Đây có thể được xem là một ứng dụng khoa học ý nghĩa góp phần ngăn chặn sự lây lan của dịch bệnh, nâng cao sức khỏe của con người.

Thay lời kết

Cơ chế xâm nhiễm và cách thức hoạt động của virus SARS-CoV-2 ngày càng được làm sáng tỏ, các chiến lược ngăn ngừa và điều trị Covid-19 đã được giải định. Nhiều trong số đó đang được triển khai thành các nghiên cứu, từ in vitro đến in vivo và thử nghiệm lâm sàng. Trong đó, khía cạnh nổi trội nhất là hoạt động nghiên cứu và phát triển vắc xin. Sau hơn một năm bùng phát dịch, với tốc độ lây lan nhanh và trải qua nhiều biến thể khác nhau, việc phát triển vắc xin cho Covid-19 là một cuộc đua và thách thức lớn đối với các nhà khoa học. Do đó, song song với việc tập trung phát triển vắc xin, mở rộng thử nghiệm các chiến

lược phòng ngừa và điều trị khác là một hướng đi tiềm năng góp phần rút ngắn thời gian đẩy lùi dịch bệnh trước khi đạt được miễn dịch cộng đồng.

Bên cạnh đó, các sản phẩm công nghệ có đầy đủ cơ sở khoa học nên được áp dụng thử nghiệm trong phạm vi cho phép nhằm cung cấp giải pháp hỗ trợ phòng chống dịch, thúc đẩy sự phát triển của khoa học và công nghệ Việt Nam

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M. Hoffmann, et al. (2020), "SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor", *Cell*, **181**, pp.271-280.

[2] Y. Huang, et al. (2020), "Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for Covid-19", *Acta Pharmacologica Sinica*, **41**, pp.1141-1149.

[3] W.J. Wiersinga, et al. (2020), "Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of Coronavirus disease 2019 (Covid-19): a review", *Jama*, **324**, pp.782-793.

[4] Y. Zhao, et al. (2020), "Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the receptor of SARS-CoV-2", *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **202**, pp.756-759.

[5] D. Wu, X.O. Yang (2020), "TH17 responses in cytokine storm of Covid-19: an emerging target of JAK2 inhibitor fedratinib", *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, **53**, pp.368-370.

[6] N.S. Roshanravan, et al. (2020), "Angiotensin converting enzyme-2 as therapeutic target in Covid-19", *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, **14**, pp.637-639.

[7] Q. Hou, et al. (2019), "Berberine: a traditional natural product with novel biological activities", *Altern. Ther. Health Med.*, **26**, pp.20-27.

[8] A.H. Amin, et al. (1969), "Berberine

sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action", *Can. J. Microbiol.*, **15**, pp.1067-1076.

[9] E. Mirhadi, et al. (2018), "Nano strategies for berberine delivery, a natural alkaloid of Berberis", *Biomedicine Pharmacotherapy*, **104**, pp.465-473.

[10] A. Warowicka, et al. (2020), "Antiviral activity of berberine", *Archives of Virology*, **165**, pp.1935-1945.

[11] A. Kumar, et al. (2015), "Current knowledge and pharmacological profile of berberine: an update", *Eur. J. Pharmacol.*, **761**, pp.288-297.

[12] M. Imenshahidi, H. Hosseinzadeh (2016), "Berberis vulgaris and berberine: an update review", *Phytother. Res.*, **30**, pp.1745-1764.

[13] A. Lugini, et al. (2019), "The isoquinoline alkaloid berberine inhibits human cytomegalovirus replication by interfering with the viral immediate Early-2 (IE2) protein transactivating activity", *Antiviral Research*, **164**, pp.52-60.

[14] F.S. Varghese, et al. (2021), "Berberine and obatoclax inhibit SARS-CoV-2 replication in primary human nasal epithelial cells in vitro", *Viruses*, **13**, DOI: 10.3390/v13020282.

[15] F. Yu, et al. (2017), "PEG-lipid-PLGA hybrid nanoparticles loaded with berberine-phospholipid complex to facilitate the oral delivery efficiency", *Drug Deliv.*, **24**, pp.825-833.

[16] Z.Z. Wang, et al. (2021), "A small molecule compound berberine as an orally active therapeutic candidate against Covid-19 and SARS: a computational and mechanistic study", *The FASEB Journal*, **35**, DOI: 10.1096/fj.202001792R.

[17] E. Dong, et al. (2020), "Correction to lancet infectious diseases 2020", *Lancet Infect. Dis.*, **20**, pp.533-534.

[18] F.A. Lagunas-Rangel, V. Chávez-Valencia (2020), "High IL-6/IFN- γ ratio could be associated with severe disease in Covid-19 patients", *Journal of Medical Virology*, **92**, pp.1789-1790.