

Đánh giá khả năng ức chế các đích phân tử virus SARS-CoV-2 của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử

Tạ Thị Thu Hằng¹, Nguyễn Bảo Kim¹, Nguyễn Hồng Nhung¹, Vũ Khánh Linh¹, Đỗ Thị Hồng Khánh¹, Phan Văn Ngọc², Nguyễn Thanh Hải¹, Bùi Thanh Tùng^{1*}

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Công ty Cổ phần Dược phẩm Quảng Bình

Ngày nhận bài 4/7/2022; ngày chuyển phản biện 8/7/2022; ngày nhận phản biện 20/7/2022; ngày chấp nhận đăng 25/7/2022

Tóm tắt:

COVID-19 là một bệnh truyền nhiễm liên quan đến viêm đường hô hấp cấp do virus SARS-CoV-2 gây ra. Cơ chế xâm nhập và lây nhiễm của nó được biết đến thông qua protein S, 3CL^{pro}, enzym chuyển đổi angiotensin 2 (ACE2) và ARN polymerase phụ thuộc RNA (RdRp). Vì thế, chúng là các đích quan trọng trong sự ức chế lây nhiễm virus SARS-CoV-2. Cây Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*) được chứng minh là có khả năng ức chế sự nhân lên của một số virus. Nghiên cứu này đánh giá tác dụng ức chế các đích protein S, 3CL^{pro}, ACE2 và RdRp của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử. Cấu trúc 3D của RdRp, main protease (3CL^{pro}), protein S và ACE2 được lấy từ Ngân hàng dữ liệu protein RCSB. Các hợp chất được thu thập từ các tài liệu về thành phần hóa học của cây Xuyên tâm liên và các cấu trúc này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem. Thực hiện docking phân tử bằng phần mềm Autodock vina. Luật 5 Lipinski được sử dụng để đánh giá khả năng đặc tính giống thuốc của các hợp chất. Thông số được động học của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM. Dựa trên các công bố trước đây về cây Xuyên tâm liên, 22 hợp chất thu thập được là thành phần hóa học chính có trong cây. Kết quả cho thấy, hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có tác dụng ức chế mạnh trên cả 2 đích RdRp và enzym 3CL^{pro} của virus SARS-CoV-2. Phân tích dựa trên luật 5 Lipinski cho thấy, hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có đặc tính giống thuốc. Ngoài ra, kết quả dự đoán thông số được động học cho thấy, hợp chất này có khả năng hấp thu ở ruột rất tốt và độc tính thấp. Vì vậy, 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide là hợp chất tiềm năng có thể trở thành thuốc điều trị COVID-19 từ cây Xuyên tâm liên.

Từ khóa: ACE2, *Andrographis paniculata*, docking, *in silico*, phân tử, protein S, RdRp, SARS-CoV-2, 3CL^{pro}.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

COVID-19 là một bệnh truyền nhiễm liên quan đến viêm đường hô hấp cấp, có nguồn gốc từ một chợ bán hải sản ở thành phố Vũ Hán, tỉnh Hồ Bắc, Trung Quốc do virus SARS-CoV-2 gây ra [1]. Tính đến ngày 20/7/2022, thế giới có hơn 570 triệu ca nhiễm bệnh và gần 6,4 triệu ca tử vong vì COVID-19 [2]. Việt Nam tính đến ngày 20/7/2022 có hơn 10,7 triệu ca nhiễm, trong đó đã khỏi hơn 9,8 triệu ca và tử vong hơn 43 nghìn ca. Các triệu chứng của người nhiễm virus SARS-CoV-2 rất đa dạng, có thể không có triệu chứng hoặc viêm đường hô hấp cấp và suy đa tạng. Các triệu chứng tương tự người bị nhiễm trùng đường hô hấp khác như sốt, đau họng, ho, khó thở, nhức đầu, mệt mỏi, đau cơ. Bệnh có thể tiến triển nặng dẫn đến viêm phổi, suy hô hấp và tử vong ở một số ít bệnh nhân vào tuần đầu tiên khi nhiễm bệnh bởi có sự gia tăng mạnh mẽ của các cytokine gây viêm [3]. Ngoài ra, các bệnh lý đi kèm như đái tháo đường, tăng huyết áp, các bệnh về tim mạch và hô hấp cũng làm nặng thêm tình trạng của người bệnh [4].

Virus SARS-CoV-2 là loại virus có ARN sợi đơn [5]. Bộ gen của nó mã hóa 9.860 axit amin, có chiều dài là 29.881 bp [6]. Các protein cấu trúc quan trọng nhất của COVID-19

là protein gai (S), protein bao bọc (E), protein màng (M) và protein nucleocapsid (N) [7]. Protein S là một glycoprotein trimeric TM bao phủ bề mặt của virus với số lượng lớn được glycosyl hóa và liên kết với ACE2 của tế bào chủ lớp I. Protein S có 2 chức năng chính là kết hợp với thụ thể và hợp nhất virus [8, 9]. 3-chymotrypsin like protease (3CL^{pro}) còn gọi là main protease - một enzym quan trọng đối với sự sao chép của virus, đặc biệt enzym này phân cắt các polyprotein được dịch mã từ RNA của virus để tạo ra các protein chức năng [10].

ACE2 là một protein màng loại I được tìm thấy ở phổi, thận, ruột, tim và được virus SARS-CoV-2 dùng làm thụ thể để xâm nhiễm vào tế bào chủ [11-13]. ACE2 bao gồm 850 axit amin, trong đó có một chuỗi trình tự HEXXH-E liên kết với kẽm (Zn). Thụ thể ACE2 đóng vai trò quan trọng đối với SARS-CoV-2 vì ACE2 giúp virus tới các tế bào phế nang [14].

ARN polymerase phụ thuộc RNA (RdRp) - một loại enzym quan trọng, có vai trò quan trọng trong quá trình sao chép và phiên mã RNA trong tế bào chủ [15], là một trong những đích đầy hứa hẹn để phát triển thuốc SARS-CoV-2. Vì RdRp là một enzym virus không có chất tương đồng tế bào chủ, các chất ức chế chọn lọc trên đích RdRp ít tác động đến các tế bào khác

*Tác giả liên hệ: Email: tungasia82@gmail.com

Evaluating inhibitory activity of bioactive compounds from *Andrographis paniculata* against the molecular targets of the SARS-CoV-2 virus by using the molecular docking method

Thi Thu Hang Ta¹, Bao Kim Nguyen¹, Hong Nhung Nguyen¹, Khanh Linh Vu¹, Thi Hong Khanh Do, Van Ngoc Phan², Thanh Hai Nguyen¹, Thanh Tung Bui^{1*}

¹University of Medicine and Pharmacy,
Vietnam National University, Hanoi

²Quang Binh Pharmaceutical Joint Stock Company

Received 4 July 2022; accepted 25 July 2022

Abstract:

Covid-19 is an infectious disease associated with acute respiratory infections caused by the SARS-CoV-2 virus. Its entrance and infection mechanisms have been identified as S protein, main protease (M^{pro} or 3CL^{pro}), angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). As a result, they are critical targets in the prevention of SARS-CoV-2 viral infection. *Andrographis paniculata* has been shown to be potentially effective in the treatment of several viruses. This study evaluated the inhibitory effects of compounds in *Andrographis paniculata* against the S protein, 3CL^{pro}, ACE2, and RdRp targets by molecular docking method. The 3D structure of the SARS-CoV-2 RdRp, 3CL^{pro}, S protein and ACE2 were obtained from the RCSB Protein Data Bank. Compounds were collected from the publication of *Andrographis paniculata* and these structures were obtained from the PubChem database. Molecular docking was done by AutoDock Vina software. Lipinski rule of five is used to compare compounds with drug-like and non-drug-like properties. Pharmacokinetic parameters of potential compounds were evaluated using the pkCSM tool. Based on previous publications of *Andrographis paniculata*, 22 main compounds were collected. The results showed that the compound 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide had a strong inhibitory effect on both the RdRp and 3CL^{pro} targets of SARS-CoV-2 virus. Analysis of Lipinski 5's rule exhibited that 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide has drug-likeness properties. In addition, the results of predicting pharmacokinetic parameters indicated that this compound had good intestinal absorption and low toxicity. The compound 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide is a potential compound to become the therapeutic drug Covid-19 from *Andrographis paniculata*.

Keywords: ACE2, *Andrographis paniculata*, docking, *in silico*, molecular, protein S, RdRp, SARS-CoV-2, 3CL^{pro}.

Classification number: 3.4

ngoài tế bào đích, do đó có thể được phát triển để cải thiện hiệu quả và ít gây ra các tác dụng không mong muốn. Đây chính là liệu pháp điều trị COVID-19 an toàn và hiệu quả hơn so với ức chế các đích phân tử khác [16].

Cây Xuyên tâm liên đã được sử dụng để điều trị rần rần, tiêu đường, kiết lý, sốt và sốt rét [17]. Phần trên mặt đất của cây này có chứa diterpenoids, diterpene glycoside, lacton, flavonoid và flavonoid glycoside. Xuyên tâm liên đã được báo cáo là có một loạt các tác dụng dược lý như chống ung thư [18], HIV [19], anti-diarrheal [20], anti-hepatitis [21], hạ đường huyết [22], kháng khuẩn, chống sốt rét [23, 24], chống viêm, chống oxy hóa [25], tim mạch [26, 27], bảo vệ gan [28], kích thích miễn dịch [29, 30]. Trong một nghiên cứu cho thấy, một hợp chất trong cây Xuyên tâm liên là andrographolide được đánh giá *in vitro* với khả năng làm giảm quá trình nhân lên của virus SARS coronavirus với giá trị EC₅₀=1,2 µg/ml [31]. Do đó, cây Xuyên tâm liên được lựa chọn với mục đích sàng lọc các hợp chất có trong cây và đánh giá hiệu quả cũng như tiềm năng trở thành thuốc trong điều trị SAR-CoV-2.

Docking phân tử là một kỹ thuật mô hình hóa với mục đích dự đoán vị trí và cấu hình mà phối tử (ligand) có thể liên kết với phân tử protein (target). Phối tử được cho dịch chuyển trong không gian bao quanh phân tử protein để tìm vị trí có khả năng gắn kết bền vững nhất sử dụng các hàm đánh giá và phương pháp tìm kiếm cực trị toàn cục khác nhau. Từ đó có thể tìm ra được những hợp chất có tác dụng ức chế protein [32]. Phương pháp docking phân tử này có ưu điểm tiết kiệm thời gian và chi phí trong việc sàng lọc các hợp chất so với các phương pháp thực nghiệm [33]. Mục tiêu của nghiên cứu này là sàng lọc các hợp chất có tác dụng ức chế các đích phân tử protein S, 3CL^{pro}, ACE2 và RdRp của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử nhằm tìm kiếm hợp chất có thể phát triển thành thuốc để điều trị SARS-CoV-2.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Mô hình docking

Chuẩn bị cấu trúc protein: Cấu trúc 3D của enzym SARS-CoV-2 RdRp (PDB ID: 6M71), 3CL^{pro} (PDB ID: 6W63), protein S (PDB ID: 6VYB) và ACE2 (PDB ID: 1R4L) được truy xuất từ Ngân hàng dữ liệu protein RCSB (www.rcsb.org). Protein S của SARS-CoV-2 với ID 6VYB bao gồm 3 chuỗi: A, B, C và chuỗi A được tách ra để sử dụng cho mô hình docking [34]. Hai phối tử đồng kết tinh X77 và XX5 của 3CL^{pro} (ID: 6W63) và ACE2 (ID: 1R4L) được sử dụng để đánh giá và tối ưu hóa mô hình docking. Vùng hoạt động của protein được xác định bằng phần mềm MOE và Discovery Studio Visualizer 4.0. Để chuẩn bị cho quá trình docking, tất cả các phân tử nước và đồng tinh thể đã được loại bỏ khỏi phân tử protein bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Các phân tử hydrogen được thêm vào bằng phần mềm Autodock Vina trước khi tái lập vùng hoạt động của protein sử dụng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. Trung tâm hoạt động của RdRp, 3CL^{pro}, protein S và ACE2 được xác định ở bảng 1.

Bảng 1. Trung tâm hoạt động của 4 protein quan trọng.

Protein	Kích thước hộp lưới (Å)	(x, y, z)
Rdrp	30×30×30	(121, 120, 125)
3CL ^{pro}	20×20×20	(-20.313, 18.742, -28.341)
Spike protein	12×10×13	(197.044, 222.794, 205.696)
ACE2	12×10×13	(40,003, 6,069, 28,538)

Chuẩn bị cấu trúc phối tử: Dựa trên các công bố trước đây, thu thập được 22 hợp chất có khả năng ức chế SARS-COV-2 từ cây Xuyên tâm liên [35, 36]. Cấu trúc 3D của những hợp chất này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem ở định dạng sdf sau đó chuyển thành định dạng pdb bằng phần mềm Chimera [37, 38]. Tiếp theo, các phối tử được tối ưu hóa bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate Gradients) rồi chuyển thành định dạng pdbqt bằng phần mềm Autodock Tool [39, 40].

Thực hiện docking phân tử: Các phối tử được dock vào trung tâm hoạt động của protein bằng phần mềm Autodock vina. Sử dụng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0 giúp quan sát các liên kết giữa protein và các hợp chất sàng lọc được.

Đánh giá kết quả docking: Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử từ đồng tinh thể đã được docking lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu. Quá trình được thực hiện thành công nếu giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) nhỏ hơn hoặc bằng 1,5 Å. Đối với các chất cần docking, khả năng gắn kết của chúng được đánh giá thông qua tương tác với các axit amin trong trung tâm hoạt động của protein và năng lượng tương tác được tính bởi hàm tính điểm (scoring function) của Autodock vina.

Đánh giá quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski

Quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski được sử dụng để đánh giá đặc tính giống thuốc của các hợp chất [41] thông qua công cụ online (<http://www.scfbio-itt.d.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>) [42].

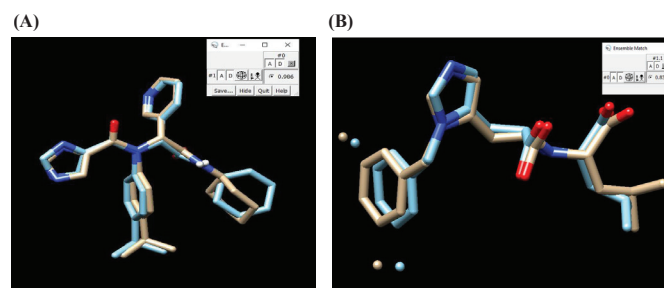
Dự đoán các thông số dược động học

Kết quả dự đoán các thông số về dược động học bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính (ADMET) của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) [43].

Kết quả

Đánh giá mô hình docking

Trước khi sàng lọc các hợp chất, mô hình docking cần được đánh giá tính chính xác của nó. Kết quả sau khi docking lại phối tử đồng tinh thể thu được giá trị RMSD lần lượt là 0,986 và 0,836 Å (hình 1). Hai giá trị này thỏa mãn điều kiện RMSD nhỏ hơn 1,5 Å chứng tỏ kết quả docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy.

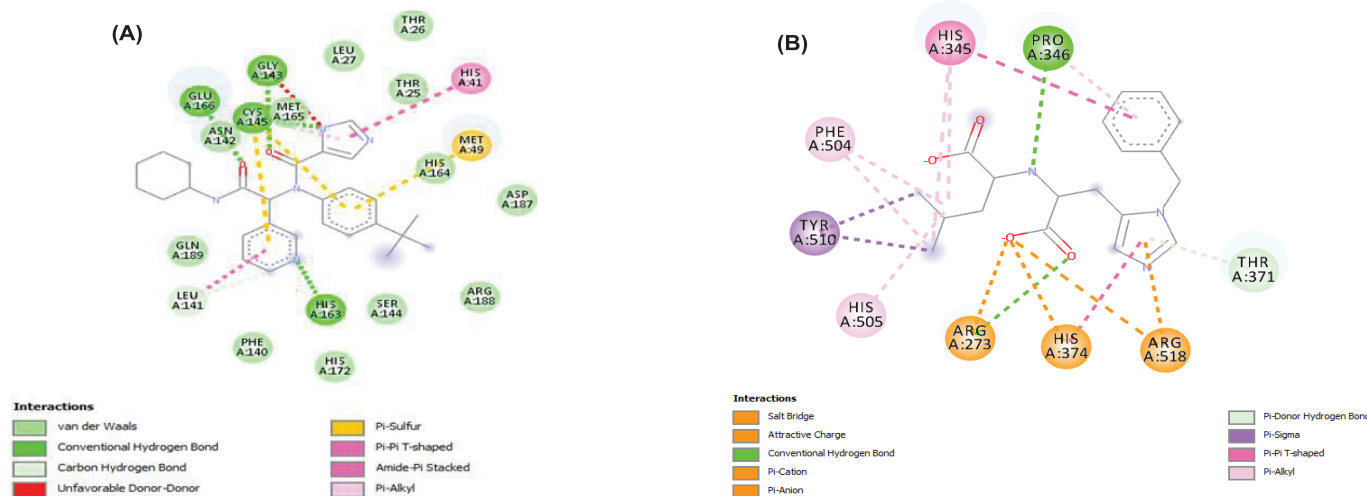


Hình 1. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh của phức hợp 6W63 (A) và 1R4L (B).

Sự tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với 3CL^{pro} và ACE2 được thể hiện ở hình 2.

Mô hình docking của các hợp chất với đích protein

Sau khi chuẩn bị phối tử, tiến hành docking 22 hợp chất thiên nhiên từ cây Xuyên tâm liên để sàng lọc hoạt động ức chế các protein đích của SARS-COV-2 của chúng. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.



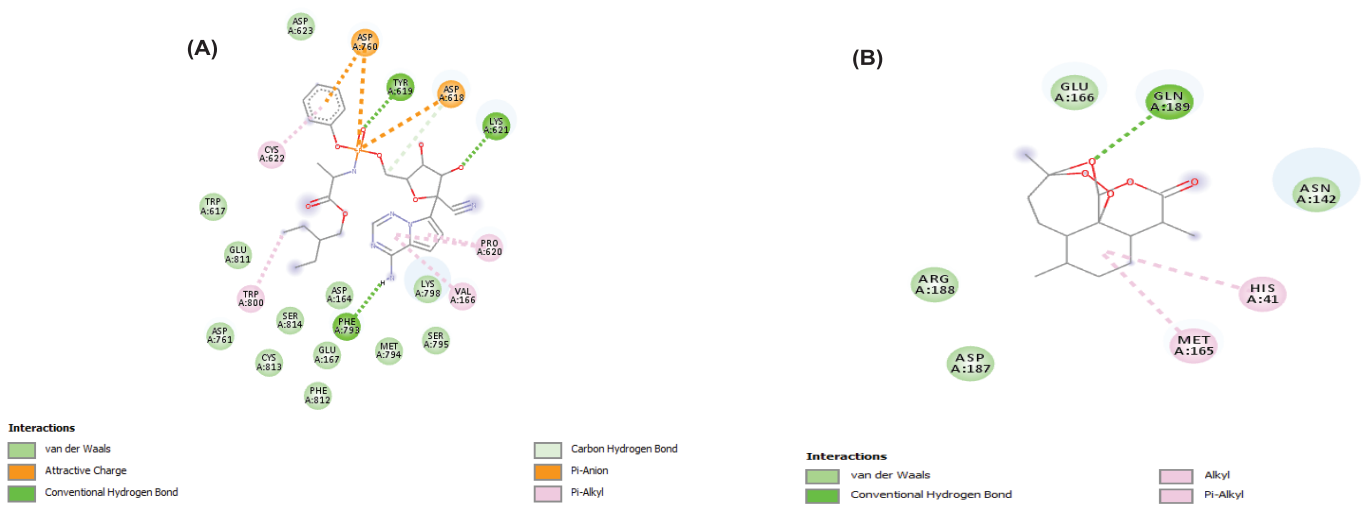
Hình 2. Biểu diễn 2D tương tác của phối tử đồng kết tinh X77 với 3CL^{pro} (A) và XX5 với ACE2 (B).

Bảng 2. Kết quả docking của 22 hợp chất, các phối tử đồng kết tinh (X77, XX5) và các chất chứng dương (Artemisinin, remdesivir).

STT	Hợp chất	RdRp (6m71)	ACE2 (1R4L)	3CL ^{pro} (kcal/mol) (6W63)	Protein S (6VYB)
1	Andrographolide	-6,8	-4,3	-7,2	-5,3
2	Neoandrographolide	-7,9	-3,8	-7,8	-5,9
3	14-Deoxyandrographolide	-6,2	-4,7	-7,3	-5,3
4	Andrographiside	-7,9	-4,0	-7,8	-6,1
5	Isoandrographolide	-6,8	-4,2	-7,9	-5,8
6	Andrographic axit	-7,1	-3,8	-7,0	-5,5
7	Andrograpanin	-6,1	-4,6	-7,4	-5,2
8	3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide	-8,7	-4,6	-8,1	-6,1
9	Andrographolactone	-6,2	-4,5	-7,5	-5,5
10	12-Hydroxyandrographolide	-6,7	-4,8	-7,4	-5,0
11	Andropanolide	-6,2	-4,4	-7,0	-5,6
12	Andrographatoside	-7,3	-4,1	-7,4	-5,9
13	Bisandrographolide	-8,6	-3,9	-8,2	-6,6
14	Dehydroandrographolide	-6,4	-4,3	-6,9	-5,6
14	14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide	-6,3	-4,4	-7,4	-5,5
16	14-deoxy-14,15-dehydroandrographolide	-6,5	-4,4	-7,6	-5,5
17	3,19-isopropylideneandrographolide	-7,6	-4,7	-8,1	-5,9
18	5-hydroxy-7,8-dimethoxyflavone	-6,5	-4,2	-7,0	-5,3
19	5-hydroxy-7', 8', 2', 5'-tetramethoxyflavone	-6,4	-4,2	-7,4	-5,4
20	5-hydroxy-7', 8', 2', 3'-tetramethoxyflavone	-6,4	-4,0	-6,8	-5,6
21	5-hydroxy-7', 8', 2'-trimethoxyflavone	-7,6	-3,7	-7,9	-5,9
22	7-O-methylwogonin	-6,5	-4,2	-7,0	-5,3
23	Remdesivir (R1)	-7,5			
24	Artemisinin (R2)				-7,3
25	X77 (R3)			-8,6	
26	XX5 (R4)		-7,5		

Remdesivir là thuốc đầu tiên được Cục Quản lý thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) chấp thuận để điều trị COVID-19 nhờ bằng chứng đáng kể về hiệu quả và tính an toàn của nó [44]. Remdesivir là một chất ức chế RdRp, do đó có thể ức chế sự nhân lên của coronavirus trong các tế bào biểu mô đường hô hấp [45]. Artemisinin cũng đã được chứng minh khả năng hoạt động như một chất ức chế protein S [46]. Do đó, nghiên cứu

này tiến hành so sánh năng lượng gắn kết của các hợp chất tiềm năng với remesdevir và artemisinin (chất chứng dương để đánh giá khả năng ức chế enzym RdRp và protein S của chúng). Về khả năng ức chế 3CL^{pro} và ACE2 của các hợp chất thu được, năng lượng liên kết với hai phối tử đồng kết tinh sau khi docking lại sẽ được sử dụng để so sánh. Kết quả hình 3 cho thấy liên kết của RdRp với remdesivir, protein S với artemisinin.



Hình 3. Biểu diễn 2D tương tác của RdRp với remdesivir (A), protein S với artemisinin (B).

Từ bảng 2 ta thấy, 4 hợp chất có năng lượng liên kết thấp hơn remdesivir (-7,5 kcal/mol), bao gồm neoandrographolide (-7,9 kcal/mol), andrographiside (-7,9 kcal/mol), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (-8,7 kcal/mol), bisandrographolide (-8,6 kcal/mol). Hơn nữa, 4 hợp chất này liên kết với 3CL^{pro} với năng lượng khá thấp, cụ thể là neoandrographolide (-7,8 kcal/mol), andrographiside (-7,8 kcal/mol), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (-8,1 kcal/mol), bisandrographolide (-8,2 kcal/mol). Tương tác phối tử - với axit amin RdRp (hình 4) và 3CL^{pro} (hình 5) cho thấy chủ yếu là tương tác qua liên kết hydro và π . Các axit amin của 2 protein virus này với 4 hợp chất tiềm năng được thể hiện ở bảng 3.

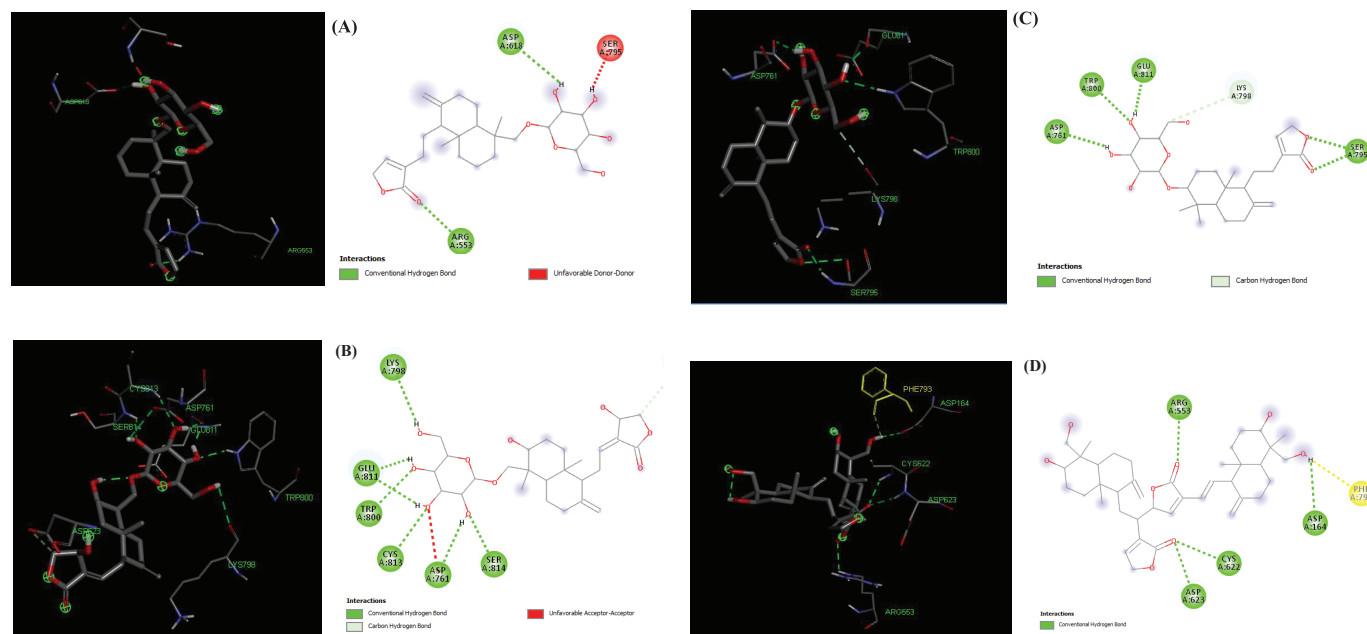
Bảng 3. Bốn hợp chất tiềm năng liên kết với các axit amin của RdRp và 3CL^{pro} trong vùng hoạt động tương ứng.

STT	Tên	Liên kết với axit amin của RdRp	Liên kết với axit amin của 3CL ^{pro}
1	Neoandrographolide	ASP618, SER795, ARG553	HIS41, MET49, GLN189, THR25, THR190
2	Andrographiside	ASP761, LYS798, GLU811, CYS813, SER814, TRP800	THR25, CYS44, HIS41
3	3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide	ASP761, GLU811, TRP800, SER795, LYS798	HIS41, MET49, HIS163, LEU141, PHE140, ASN142, THR190
4	Bisandrographolide	ASP623, ARG553, CYS622, ASP164, PHE793	LEU141, ASN142, GLY143

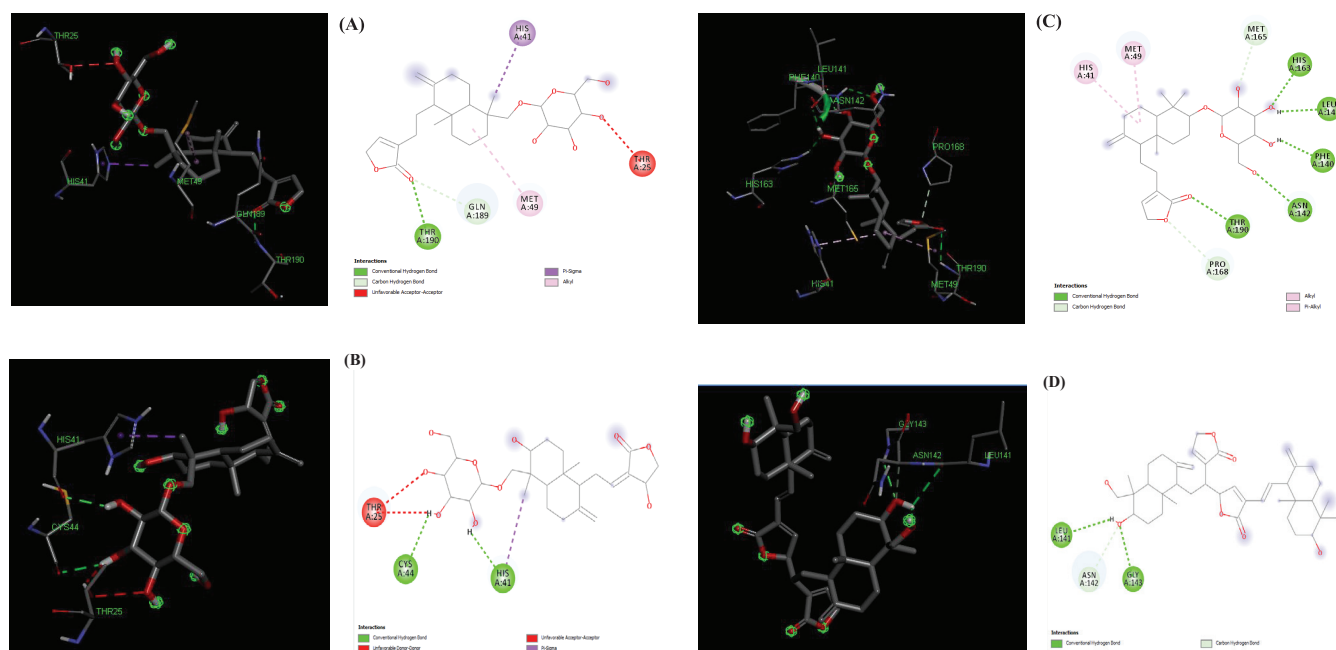
Đối với 2 đích phân tử protein S và ACE2, 4 phân tử có năng lượng liên kết cao hơn so với 2 chất chứng dương artemisinin và phối tử đồng kết tinh XX5. 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có năng lượng liên kết thấp nhất với RdRp (-8,7 kcal/mol), được dock vào vùng hoạt động của enzym này với vị trí tương tự như remdesivir. Hợp chất này liên kết với protein đích qua các liên kết hydro với ASP761, GLU811, TRP800, SER795 và LYS798. Bisandrographolide cũng cho thấy những tương tác tương tự với RdRp, qua các axit amin ASP623, ARG553, CYS622 và ASP164. Neoandrographolide và andrographiside cũng có năng lượng liên kết khá thấp với enzym virus này qua những amino axit tương tự, liên kết hydro với ASP761, ASP618 và ARG553. So sánh tương tác của 4 hợp chất này và 3CL^{pro} với phối tử đồng kết tinh X77 có thể thấy, liên kết phối tử - axit amin của hầu hết các hợp chất cũng tương tự nhau. Đó là những axit amin quan trọng như ASN142, HIS41 và MET49.

Kết quả quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski

Các hợp chất được gọi là “giống thuốc” khi chúng đáp ứng ít nhất 2 trong 5 các tiêu chí của luật 5 Lipinski: (1) Khối lượng phân tử <500 Da; (2) Có tính ưa dầu cao (LogP nhỏ hơn 5); (3) Không có nhiều hơn 5 nhóm cho liên kết hydrogen; (4) Không có nhiều hơn 10 nhóm nhận liên kết hydrogen; (5) Độ khúc xạ mol phải nằm trong khoảng 40-130. Kết quả đáp ứng quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski của 4 hợp chất trên được trình bày ở bảng 4.



Hình 4. Biểu diễn sự tương tác của neoandrographolide (A), andrographiside (B), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (C), bisandrographolide (D) với RdRp biểu diễn 2D (phải) và 3D (trái).



Hình 5. Biểu diễn sự tương tác của neoandrographolide (A), andrographiside (B), 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (C), bisandrographolide (D) với enzym 3CL^{pro} biểu diễn 2D (phải) và 3D (trái).

Bảng 4. Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski.

STT	Hợp chất	Khối lượng phân tử	Nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	logP	Độ khúc xạ mol (MR)	Hợp chất giống thuốc
1	Neoandrographolide	480	4	8	1,845	123,414	Có
2	Andrographiside	512	6	10	-0,213	126,193	Không
3	3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide	480	4	8	1,843	123,392	Có
4	Bisandrographolide	664	4	8	5,368	182,041	Có

Kết quả bảng 4 cho thấy, neoandrographolide và 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide thỏa mãn cả 5 tiêu chí lipinski cho thấy đặc tính giống thuốc rất cao. Bisandrographolide cũng thỏa mãn 2 tiêu chí đó là nhóm cho, nhận liên kết hydrogen. Do đó 3 hợp chất này tiếp tục được đánh giá đặc tính dược động học, bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính.

Đánh giá ADMET

Kết quả dự đoán ADMET gồm các quá trình hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ, độc tính được trình bày ở bảng 5.

Khả năng hấp thu của các chất được đánh giá dựa trên 3 thông số, đó là khả năng hòa tan trong nước, tính thấm qua màng Caco2, phần trăm hấp thu thuốc ở đường ruột. Kết quả bảng 5 cho thấy, khả năng hòa tan trong nước của các hợp chất khá kém với nồng độ mol chỉ khoảng 10⁻⁴ mol/l). Tính thấm qua màng Caco2 (logP_{app} trong 10⁻⁶ cm/s) có giá trị cao hơn 0,9 được cho là có khả năng thấm tốt, cả 3 hợp chất

đều có khả năng thấm không cao với giá trị logP_{app} trong 10⁻⁶ cm/s đều <0,9 (0,474, 0,532, 0,451). Tuy nhiên, khả năng hấp thu ở ruột lại khá tốt với giá trị cao nhất là 86,55% của bisandrographolide, neoandrographolide và 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có phần trăm hấp thu thấp hơn và gần bằng nhau, lần lượt là 62,263 và 62,867%. Đối với sự phân bố, giá trị logBBB lớn hơn 0,3 được cho là có khả năng hấp thu tốt qua hàng rào máu não. Cả 3 hợp chất đều không hấp thu qua hàng rào máu não (logBBB<0,3). Về chuyển hóa, hệ cytochrome P450 là hệ enzym quan trọng trong quá trình chuyển hóa thuốc ở gan, đánh giá chuyển hóa của 3 hợp chất với CYP2D6 và CYP3A4 nhận thấy, chỉ có bisandrographolide là cơ chất của CYP3A4. Cả 3 hợp chất đều có thể thải trừ qua thận, trong đó có neoandrographolide thải trừ nhanh hơn cả với độ thanh thải toàn phần là 0,936 (logml/phút/kg). Về độc tính, cả 3 hợp chất đều không gây kích ứng da và độc tính AMES. Tuy nhiên, có neoandrographolide, bisandrographolide gây độc tính cho gan do đó cần chú ý vấn đề này.

Bảng 5. Kết quả đánh giá ADMET.

Thông số	Neoandrographolide	3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide	Bisandrographolide
Hấp thu			
Tan trong nước (logmol/l)	-4,049	-4,166	-5,144
Tính thấm màng Caco2 (logP _{app} trong 10 ⁻⁶ cm/s)	0,474	0,532	0,451
Hấp thu ở ruột (%)	62,263	62,867	86,55
Phân bố			
Thể tích phân bố (logl/kg)	-0,865	-0,432	-1,438
Tính thấm BBB (logBBB)	-0,993	-1,048	-1,187
Chuyển hóa			
Cơ chất CYP2D6	Không	Không	Không
Cơ chất CYP3A4	Không	Không	Có
Ức chế CYP2D6	Không	Không	Không
Ức chế CYP3A4	Không	Không	Không
Thải trừ			
Độ thanh thải toàn phần (logml/min/kg)	0,936	0,903	0,221
Độc tính			
Độc tính AMES	Không	Không	Không
Độc tính gan	Có	Không	Có
Kích ứng da	Không	Không	Không

Bàn luận

Nghiên cứu này thực hiện đánh giá khả năng ức chế của các hợp chất có trong cây Xuyên tâm liên với cả 4 đích phân tử của virus SARS-CoV-2 là RdRp, ACE2, 3CL^{pro} và protein S. Các hợp chất sau khi thực hiện docking phân tử thu được năng lượng liên kết tự do với các protein, thể hiện khả năng ức chế cao trên đích RdRp có 4 hợp chất neoandrographolide (-7,9 kcal/mol), andrographiside (-7,9 kcal/mol), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (-8,7 kcal/mol), bisandrographolide (-8,6 kcal/mol) có năng lượng liên kết thấp hơn hợp chất đồng kết tinh hoặc chứng dương (-7,5 kcal/mol). Ngoài ra, khả năng liên kết với enzym 3CL^{pro} của các chất kể trên cũng khá cao với năng lượng liên kết lần lượt là -7,8, -7,8, -8,1 và -8,2 (kcal/mol). Đối với 2 đích phân tử còn lại là ACE2 và protein S khả năng liên kết với các hợp chất đều không cao với năng lượng liên kết khá cao và đều cao hơn so với phân tử chất chứng dương là XX5 và artemisinin. Do đó, RdRp và 3CL^{pro} là 2 đích có tiềm năng trong việc ức chế virus khi gắn kết với các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên.

Cây Xuyên tâm liên nổi tiếng với nhiều tác dụng như hạ sốt, chống nhiễm trùng, kháng virus..., với thành phần hóa học chính là andrographolide diterpenoids, các polyphenol, flavonoid [47]. Ngoài ra, cơ chế chống virus của cây Xuyên tâm liên chủ yếu là điều chỉnh khả năng xâm nhập của virus, nhân lên của gen và tổng hợp các protein chức năng [48]. Cây Xuyên tâm liên với hợp chất chính trong cây là andrographolide đã được đánh giá *in vitro* với khả năng

giảm quá trình nhân lên của virus SARS-CoV-2 với giá trị EC₅₀=1,2 µg/ml [31].

M.E. Sukardiman và cs (2020) [49] đã thực hiện sàng lọc các hợp chất có trong cây Xuyên tâm liên và chỉ ra rằng, flavonoid glycoside glycosides 5,4'-dihydroxy-7-O-β-D-pyran-glycuronate butyl ester và andrographolide glycoside 3-O-β-D-glucopyranosyl-andrographolide là 2 hợp chất có năng lượng liên kết thấp và tương tác với các axit amin tương tự như phân tử đồng kết tinh của 3CL^{pro} (6LU7). Trong một nghiên cứu khác, K. Rajagopal và cs (2020) [50] nghiên cứu *in silico* đã chỉ ra hợp chất thể hiện khả năng liên kết cao vào vùng hoạt động của SARS-CoV-2 3CL^{pro} là andrographolide và dihydroxy dimethoxy flavone. Khi đánh giá 4 hợp chất andrographolide (AGP1), 14-deoxy 11,12-didehydro andrographolide (AGP2), neoandrographolide (AGP3) và 14-deoxy andrographolide (AGP4) từ cây Xuyên tâm liên về khả năng ức chế 4 đích quan trọng gồm 3CL^{pro}, Papain-like proteinase (PL^{pro}), RdRp, protein S của virus corona AGP3 được cho là có hiệu quả trên các đích này và được sử dụng như một thuốc thay thế hiệu quả ở các nước đang phát triển [51]. Nghiên cứu này cũng thu được kết quả tương tự với neoandrographolide là một chất có năng lượng liên kết khá thấp trên 2 đích RdRp (-7,9 kcal/mol), 3CL^{pro} (-7,8 kcal/mol). Tương tự, một nghiên cứu khác của S. Hiremath và cs (2021) [52] cũng chứng minh được rằng, neoandrographolide có tác dụng ức chế trên cả 2 đích RdRp (-8,5 kcal/mol), 3CL^{pro} (-7,9 kcal/mol). Tuy nhiên trong nghiên cứu này, mặc dù neoandrographolide cũng được đánh giá là một hợp chất

tiềm năng với năng lượng liên kết với RdRp, 3CL^{pro} lần lượt là -7,9 và -7,8 kcal/mol, nhưng 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide, bisandrographolide có năng lượng liên kết với RdRp thấp hơn, lần lượt là -8,7 và -8,6 kcal/mol được cho là có khả năng ức chế enzym này mạnh hơn so với neoandrographolide. Ngoài ra, năng lượng liên kết của 2 hợp chất này với 3CL^{pro} cũng khá thấp với giá trị lần lượt là -8,1 và -8,2 kcal/mol. Do đó, các hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19- dideoxyandrographolide, bisandrographolide có tiềm năng ức chế RdRp và 3CL^{pro} của virus SAR-CoV 2 cao hơn so với neoandrographolide.

Thông qua việc đánh giá độc tính của chúng, 3 hợp chất có tiềm năng trở thành thuốc nhất là bisandrographolide, neoandrographolide và 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide. Kết quả thu được cho thấy, bisandrographolide, neoandrographolide có khả năng gây độc tính cho gan, do đó 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có khả năng ức chế virus SARS-CoV-2 và có tiềm năng trở thành thuốc an toàn và hiệu quả nhất trong các hợp chất thuộc cây Xuyên tâm liên.

Kết luận

Hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide trong cây Xuyên tâm liên cho thấy khả năng ức chế mạnh trên cả 2 đích RdRp và 3CL^{pro} của virus SARS-CoV-2. Ngoài ra, hợp chất này cũng cho thấy đặc tính giống thuốc khi thỏa mãn tiêu chuẩn Lipinski 5 và dự đoán ADMET có khả năng hấp thu tốt, ít độc tính. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* để phát triển hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị SARS-CoV-2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] C. Wang, et al. (2020), "A novel coronavirus outbreak of global health concern", *The Lancet*, **395**(10223), pp.470-473.

[2] WHO (2021), *WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard*.

[3] N. Chen, et al. (2020), "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study", *The Lancet*, **395**(10223), pp.507-513.

[4] J. Yang, et al. (2020), "Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis", *International Journal of Infectious Diseases*, **94**, pp.91-95.

[5] R. Lu, et al. (2020), "Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding", *The Lancet*, **395**(10224), pp.565-574.

[6] L. Chen, et al. (2020), "RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak", *Emerging Microbes & Infections*, **9**(1), pp.313-319.

[7] R. Hilgenfeld (2014), "From SARS to MERS: Crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design", *The FEBS Journal*, **281**(18), pp.4085-4096.

[8] M. Letko, et al. (2020), "Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses", *Nature Microbiology*, **5**(4), pp.562-569.

[9] 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**(9), pp.1141-1149.

[10] L. Zhang, et al. (2020), "Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors", *Science*, **368**(6489), pp.409-412.

[11] M. Donoghue, et al. (2000), "A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9", *Circulation Research*, **87**(5), pp.e1-e9.

[12] H. Zhang, et al. (2020), "The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: A bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes", *BioRxiv*, DOI: 10.1101/2020.01.30.927806.

[13] C. Wu, et al. (2020), "Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV, in the nasal tissue", *MedRxiv*, DOI: 10.1101/2020.02.11.20022228.

[14] E.I. Bahbah, et al. (2020), "Purposing Saikosaponins for the treatment of COVID-19", *Medical Hypotheses*, **140**, DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109782.

[15] Y. Gao, et al. (2020), "Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus", *Science*, **368**(6492), pp.779-782.

[16] W. Zhu, et al. (2020), "RNA-dependent RNA polymerase as a target for COVID-19 drug discovery", *SLAS Discovery*, **25**(10), pp.1141-1151.

[17] <https://www.nature.com/articles/137255c0>.

[18] R.A. Kumar, et al. (2004), "Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*", *J. Ethnopharmacol.*, **92**(2-3), pp.291-295.

[19] S. Nanduri, et al. (2004), "Synthesis and structure-activity relationships of andrographolide analogues as novel cytotoxic agents", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**(18), pp.4711-4717.

[20] S. Gupta, et al. (1990), "Antidiarrhoeal activity of diterpenes of *Andrographis paniculata* (Kal-Megh) against *Escherichia coli* enterotoxin in *in vivo* models", *International Journal of Crude Drug Research*, **28**(4), pp.273-283.

[21] W. Tang, G. Eisenbrand (2013), *Chinese Drugs of Plant Origin: Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine*, Springer Science & Business Media.

[22] R. Subramanian, et al. (2008), "In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide", *Acta Biochim. Pol.*, **55**(2), pp.391-398.

[23] C. Wiart, et al. (2005), "Antiviral properties of ent-labdene diterpenes of *Andrographis paniculata* nees, inhibitors of herpes simplex virus type 1", *Phytother. Res.*, **19**(12), pp.1069-1070.

[24] P.P. Misra, et al. (1992), "Antimalarial activity of *Andrographis paniculata* (Kalmegh) against plasmodium berghei NK 65 in mastomys natalensis", *International Journal of Pharmacognosy*, **30**(4), pp.263-274.

[25] K. Sheeja, et al. (2006), "Antioxidant and anti-inflammatory activities of the plant *Andrographis paniculata* Nees", *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **28**(1), pp.129-140.

[26] C. Zhang, B. Tan (1997), "Mechanisms of cardiovascular activity of *Andrographis paniculata* in the anaesthetized rat", *Journal of Ethnopharmacology*, **56**(2), pp.97-101.

[27] B. Tan (2004), *Andrographis Paniculata and the Cardiovascular System (Herbal and Traditional Medicine: Molecular Aspects on Health)*, CRC Press.

- [28] S. Handa, A. Sharma (1990), "Hepatoprotective activity of andrographolide from *Andrographis paniculata* against carbontetrachloride", *The Indian Journal of Medical Research*, **92**, pp.276-283.
- [29] C. Calabrese, et al. (2000), "A phase I trial of andrographolide in HIV positive patients and normal volunteers", *Phytotherapy Research*, **14(5)**, pp.333-338.
- [30] M.I. Iruretagoyena, et al. (2005), "Andrographolide interferes with T cell activation and reduces experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **312(1)**, pp.366-372.
- [31] M.M. Iwu, et al. (2020), "Antiviral activity of *Andrographolide* against Ebola virus, Dengue fever and SARS coronavirus", **2020**, DOI: 10.21203/rs.3.rs-24311/v1.
- [32] X.Y. Meng, et al. (2011), "Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery", *Current Computer-Aided Drug Design*, **7(2)**, pp.146-157.
- [33] B.K. Shoichet, et al. (2002), "Lead discovery using molecular docking", *Current Opinion in Chemical Biology*, **6(4)**, pp.439-446.
- [34] P.P. Pandey, et al. (2020), "Targeting SARS-CoV-2 spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: An in silico study for drug development", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **39(16)**, DOI: 10.1080/07391102.2020.1796811.
- [35] O. Sareer, et al. (2014), "*Andrographis paniculata*: A critical appraisal of extraction, isolation and quantification of andrographolide and other active constituents", *Nat. Prod. Res.*, **28(23)**, pp.2081-2101.
- [36] <https://cmjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1749-8546-5-17>.
- [37] S. Kim, et al. (2021), "PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces", *Nucleic Acids Research*, **49(D1)**, pp.D1388-D1395.
- [38] E.F. Pettersen, et al. (2004), "UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis", *J. Comput. Chem.*, **25(13)**, pp.1605-1612.
- [39] M.D. Hanwell, et al. (2012), "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform", *J. Cheminform*, **4(1)**, pp.1-17.
- [40] G.M. Morris, et al. (2009), "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility", *J. Comput. Chem.*, **30(16)**, pp.2785-2791.
- [41] C.A. Lipinski (2004), "Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution", *Drug Discovery Today: Technologies*, **1(4)**, pp.337-341.
- [42] B. Jayaram, et al. (2012), "Sanjeevini: A freely accessible web-server for target directed lead molecule discovery", *BMC Bioinformatics*, **17**, DOI: 10.1186/1471-2105-13-S17-S7.
- [43] D.E. Pires, et al. (2015), "pkCSM: Predicting small-molecule Pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures", *J. Med. Chem.*, **58(9)**, pp.4066-4072.
- [44] D. Rubin, et al. (2020), "FDA approval of remdesivir - A step in the right direction", *New England Journal of Medicine*, **383(27)**, pp.2598-2600.
- [45] C.J. Gordon, et al. (2020), "The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus", *J. Biol. Chem.*, **295(15)**, pp.4773-4779.
- [46] M. Sehailia, S. Chemat (2020), "Antimalarial-agent artemisinin and derivatives portray more potent binding to Lys353 and Lys31-binding hotspots of SARS-CoV-2 spike protein than hydroxychloroquine: Potential repurposing of arteminol for COVID-19", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **2020**, DOI: 10.1080/07391102.2020.1796809.
- [47] S. Akbar (2020), *Andrographis Paniculata* (Burm. f.) Nees (Acanthaceae) (*Handbook of 200 Medicinal Plants*), Springer, pp.267-283.
- [48] M. Jiang, et al. (2021), "*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and its major constituent andrographolide as potential antiviral agents", *Journal of Ethnopharmacology*, **272**, DOI: 10.1016/j.jep.2021.113954.
- [49] M.S. Sukardiman, et al. (2020), "The coronavirus disease 2019 main protease inhibitor from *Andrographis paniculata* (Burm. f) Nees", *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, **11(4)**, p.157-162.
- [50] K. Rajagopal, et al. (2020), "Activity of phytochemical constituents of *Curcuma longa* (turmeric) and *Andrographis paniculata* against Coronavirus (COVID-19): An in silico approach", *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, **6(1)**, DOI: 10.1186/s43094-020-00126-x.
- [51] N.A. Murugan, et al. (2020), "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.
- [52] S. Hiremath, et al. (2021), "In silico docking analysis revealed the potential of phytochemicals present in *Phyllanthus amarus* and *Andrographis paniculata*, used in Ayurveda medicine in inhibiting SARS-CoV-2", *3 Biotech*, **11(2)**, DOI: 10.1007/s13205-020-02578-7.