

Nghiên cứu sàng lọc ảo các chất có khả năng ức chế hoạt tính interleukin-18

Nguyễn Quốc Thái¹, Nguyễn Sỹ Tịnh Thùy¹, Trần Thị Thuý Nga²
Trương Lê Mỹ Ngọc¹, Võ Thanh Phương¹, Huỳnh Nhật Lễ¹
Phạm Đình Long Hưng¹, Thái Khắc Minh¹, Lê Minh Trí^{1,3*}

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y Dược Đà Nẵng

³Khoa Y, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

Summary

This study aims to develop models for the virtual screening of IL-18 inhibitors based on the interaction between IL-18 and its receptor IL-18R α . The results hopefully can contribute to design and synthesis of novel medicines for autoimmune and inflammatory diseases. With IL-18/IL-18R α 3D-structures, 3D-pharmacophore modeling, molecular docking, and molecular dynamics simulations were performed on 147.158 structures from Drugbank and structural fragments libraries. The results showed that the compound DB02025 for site 1 of IL-18 is highly potential for the development of immunosuppressant drugs.

Keywords: IL-18, *in silico*, 3D-pharmacophore, docking, molecular dynamics simulation.

Đặt vấn đề

Interleukin-18 (IL-18) có vai trò quan trọng trong quá trình viêm và phản ứng miễn dịch. Ở bệnh nhân mắc các bệnh dị ứng (hen phế quản, viêm da dị ứng, viêm mũi dị ứng,...) và bệnh tự miễn (viêm khớp dạng thấp, lupus ban đỏ hệ thống, bệnh Still ở người lớn, bệnh xơ cứng, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng,...), nồng độ IL-18 trong máu cao [1]. IL-18 cũng được tìm thấy trong nước tiểu của bệnh nhân bị suy thận cấp [2] và gián tiếp cho sự tiến triển của bệnh tiểu đường type 2 [3]. IL-18 còn là một cytokin tiền viêm đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch mắc phải và bẩm sinh [4]. Hoạt động tiền viêm của IL-18 được thực hiện bằng cách sản xuất các cytokin gây viêm, chemokin, nitric oxid, prostaglandin và được khuếch đại bởi hoạt tính cảm ứng sản xuất IFN-gamma (Interferon-gamma, hay viết tắt là IFN- γ) từ đó kích hoạt đại thực bào. Các hoạt động đa dạng của IL-18 cho thấy vai trò quan trọng của cytokin này trong việc kích hoạt và phân cực phản ứng viêm và phản ứng miễn dịch [1]. Việc phát hiện ra

protein liên kết IL-18 (IL-18BP), chất ức chế hoạt tính sinh lý IL-18 và dấu hiệu sinh học IL-18 làm cho cytokin này trở thành mục tiêu hấp dẫn để nghiên cứu trong điều trị các bệnh lý liên quan đến đáp ứng miễn dịch và bệnh tự miễn [5]. Vì vậy, việc xây dựng mô hình *in silico* để sàng lọc các chất có khả năng ức chế hoạt tính IL-18, dựa trên tương tác IL-18 và IL-18R α (thụ thể của IL-18) là cần thiết, từ đó định hướng cho việc thiết kế và tổng hợp các thuốc điều trị các bệnh viêm nhiễm, bệnh tự miễn thể hệ mới trong tương lai.

Phương pháp nghiên cứu

Quá trình sàng lọc các chất có khả năng ức chế hoạt tính interleukin-18 được thực hiện qua ba giai đoạn: Xây dựng mô hình 3D-pharmacophore, mô tả phân tử docking và mô phỏng động học phức hợp protein-ligand bằng phần mềm Gromacs trên hệ điều hành ubuntu. Nghiên cứu xây dựng mô hình pharmacophore bằng phương pháp dựa trên cấu trúc mục tiêu tác động (structure-based), nghĩa là dựa trên các acid amin quan trọng trong khoang gắn kết của IL-18 với thụ thể IL-18R α . Công cụ Pharmacophore Editor của phần mềm MOE 2015.10 được sử dụng để xây dựng mô hình 3D-pharmacophore và sàng lọc. Sử dụng cấu trúc nhiễu xạ tia X 3D đồng kết tinh của phức hợp IL-18/IL-18R α (PDB ID là 4R6U)

Chịu trách nhiệm: Lê Minh Trí

Email: leminhtri@ump.edu.vn

Ngày nhận: 20/8/2020

Ngày phản biện: 26/8/2020

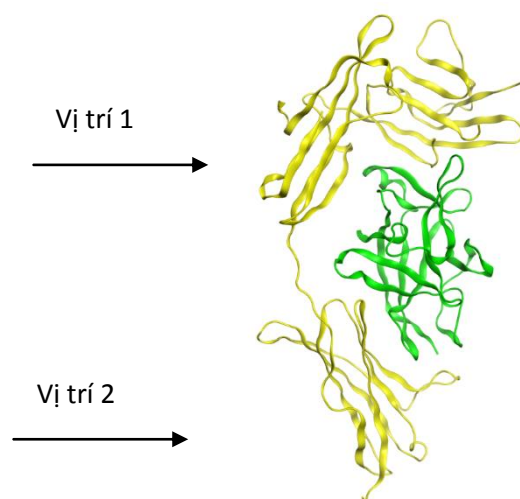
Ngày duyệt bài: 29/10/2020

với độ phân giải 2,8 Å tại ngân hàng dữ liệu protein. Tiến hành xây dựng mô hình pharmacophore theo 2 hướng: Tìm chất gắn kết IL-18 dựa vào cấu trúc thụ thể IL-18R α và tìm chất gắn kết thụ thể IL-18R dựa vào cấu trúc IL-18. Trong mô hình mô tả phân tử docking, cấu trúc tinh thể đồng kết tinh IL-18/IL-18R α thích hợp được lựa chọn cho nghiên cứu. Chuẩn bị sẵn cấu trúc trong MOE 2015.10. Các phân tử ligand được tối thiểu hóa năng lượng lần 1, sau đó tiến hành động lực học phân tử và tối thiểu hóa năng lượng một lần nữa trong Sybyl-X 2.0 để thu được các cấu trúc có năng lượng tối thiểu toàn phần chuẩn bị cho docking. Quá trình docking được thực hiện bằng phần mềm FlexX cho kết quả gồm các cấu dạng gắn kết và điểm số tương ứng (năng lượng gắn kết). Kết quả này sẽ được phân tích trong MOE 2015.10 để đánh giá khả năng gắn kết của các ligand. Cuối cùng là mô phỏng động học phức hợp protein-ligand bằng phần mềm Gromacs. Cấu trúc của protein (PDB 4R6U) sau khi loại bỏ nước và proton hóa bằng phần mềm MOE [6] được chuẩn bị bằng công cụ CHARMM-GUI tại địa chỉ www.charmm-gui.org và xây dựng topology sử dụng trường lực CHARMM-27 [7]. Cấu trúc ligand lựa chọn sau khi phân tích tương tác giữa protein và ligand sau docking được thêm hydro bằng phần mềm MOE sẽ tạo thành cơ sở dữ liệu và lưu thành file *.sdf. Tiếp theo, xây dựng topology cho ligand theo trường lực CHARMM-27 bằng cách sử dụng công cụ SwissParam tại địa chỉ <http://www.swissparam.ch> [8]. Mô phỏng động lực học phân tử phức hợp protein-ligand bằng phần mềm Gromacs. Kết quả mô phỏng động lực học được đánh giá thông qua độ ổn định của protein, độ linh động của các acid amin trong túi gắn kết protein và độ ổn định của sự gắn kết ligand với protein.

Kết quả và bàn luận

Mô hình pharmacophore

Nhận thấy IL-18 gắn kết với thụ thể IL-18R α tại 2 vị trí, tại mỗi vị trí thu được 2 mô hình khác nhau (hình 1).



Hình 1. Phức hợp IL-18 và thụ thể IL-18R α

Tại vị trí 1

- Mô hình chất gắn kết IL-18 dựa vào IL-18R α : **mô hình A1**.
- Mô hình chất gắn kết IL-18R α dựa vào IL-18: **mô hình D1**.

Tại vị trí 2

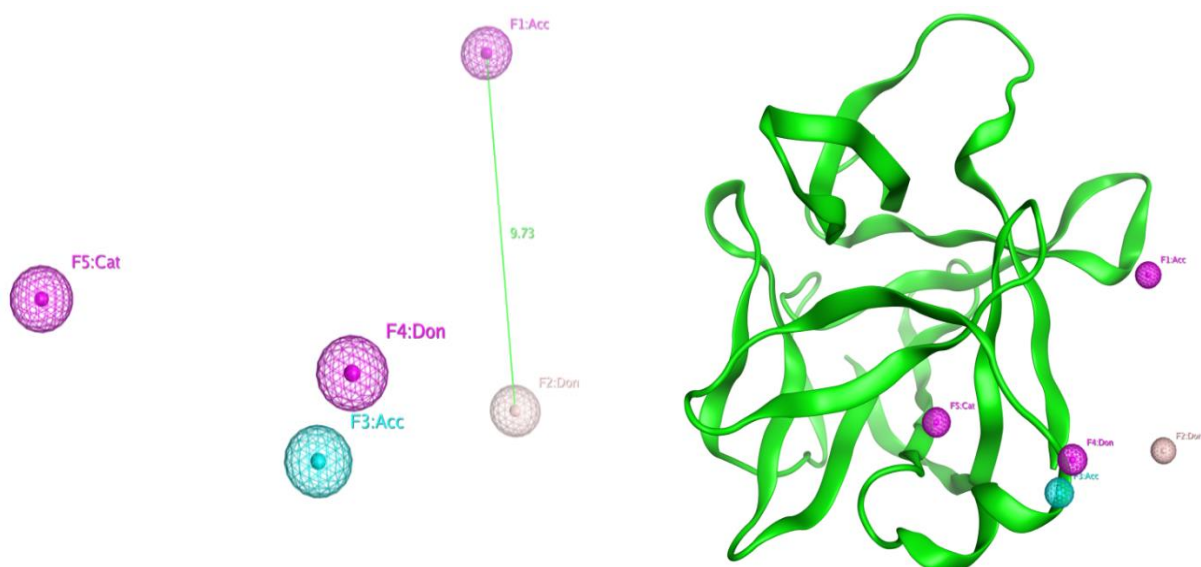
- Mô hình chất gắn kết IL-18 dựa vào IL-18R α : **mô hình A2**.
- Mô hình chất gắn kết IL-18R α dựa vào IL-18: **mô hình D2**.

Các mô hình pharmacophore cho chất gắn kết IL-18

Tại vị trí 1 (bảng 1), xuất hiện hai điểm bắt buộc là Lys128 (F1:Acc), Ser127 (F2:Acc). Ngoài ra, các acid amin Gln124 tạo liên kết cho hydro với Thr34 và có khả năng tạo một liên kết nhận hydro, Arg25 tạo liên kết cầu muối với Glu31. Mô hình pharmacophore ràng buộc thỏa mãn ít nhất 4 điểm. Tiến hành giống hàng mô hình pharmacophore ở vị trí 1 (hình 2).

Bảng 1. Tương tác giữa các acid amin quan trọng của IL-18/ IL-18R α tại vị trí 1

Acid amin trên IL-18	Tương tác	Acid amin trên IL-18R α
Asp17	(-) cầu muối (+)	Lys128
Met33	Kỵ nước	Nhiều acid amin
Asp35	(nhận) 2 liên kết hydro (cho)	Ser127



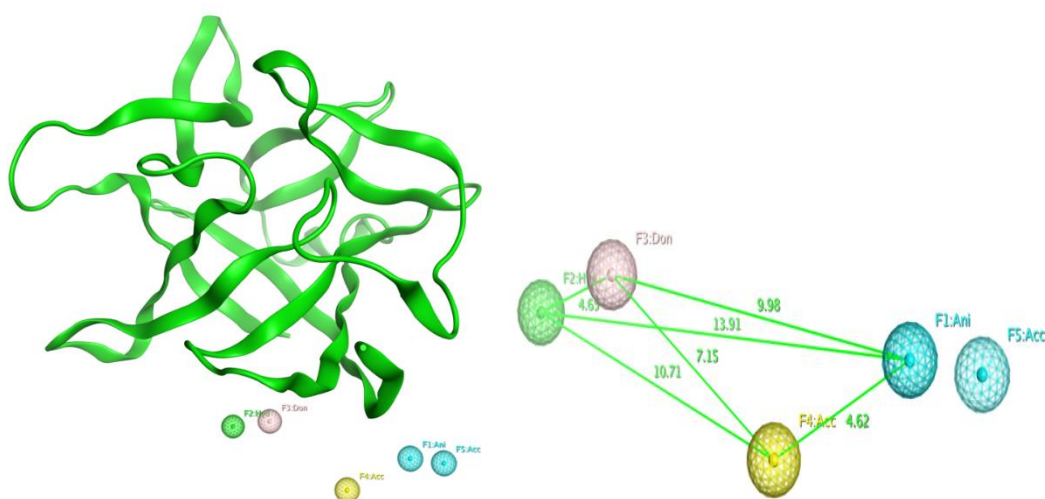
Hình 2. Mô hình A1 và sự giống hàng mô hình A1 lên IL-18

Tại vị trí 2 (bảng 2), phát hiện 4 điểm pharmacophore Lys253 (F1: Ani), Ala301 (F2: Hyd), Tyr248 (F3: Don), Trp249 (F4: Acc). Kết quả có 4 điểm bắt buộc là F1: Ani, F2: Hyd,

F3: Don, F4: Acc, điểm F5 còn lại không thiết lập ràng buộc. Mô hình yêu cầu thỏa mãn ít nhất 4 điểm. Tiến hành giống hàng ở vị trí 2 (hình 3).

Bảng 2. Tương tác giữa các acid amin quan trọng của IL-18/ IL-18Ra tại vị trí 2

Acid amin trên IL-18	Tương tác	Acid amin trên IL-18Ra
Lys53	(+) cầu muối (-)	Glu253
	(cho) Liên kết hydro (nhận)	Trp249
	(cho) Liên kết hydro (nhận)	Ala301
Met60	Kỵ nước	

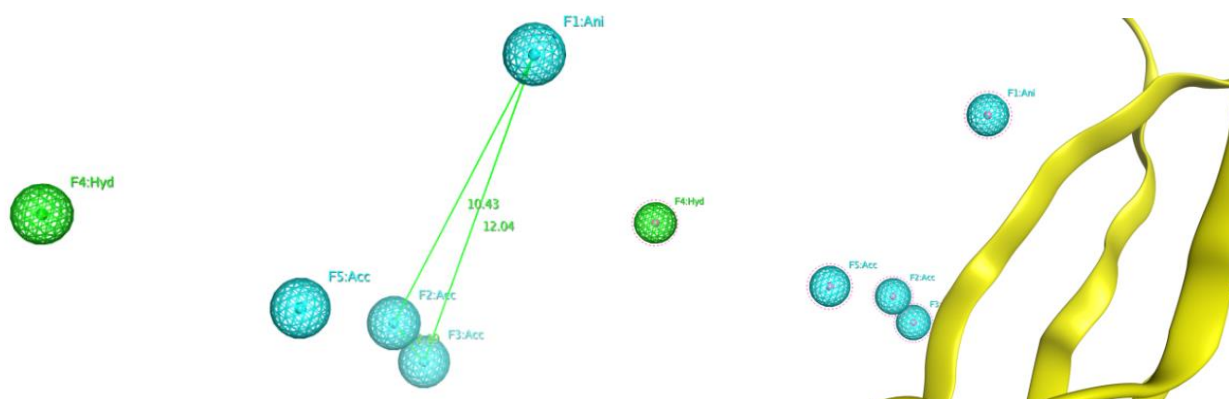


Hình 3. Mô hình A2 và sự giống hàng mô hình A2 lên IL-18

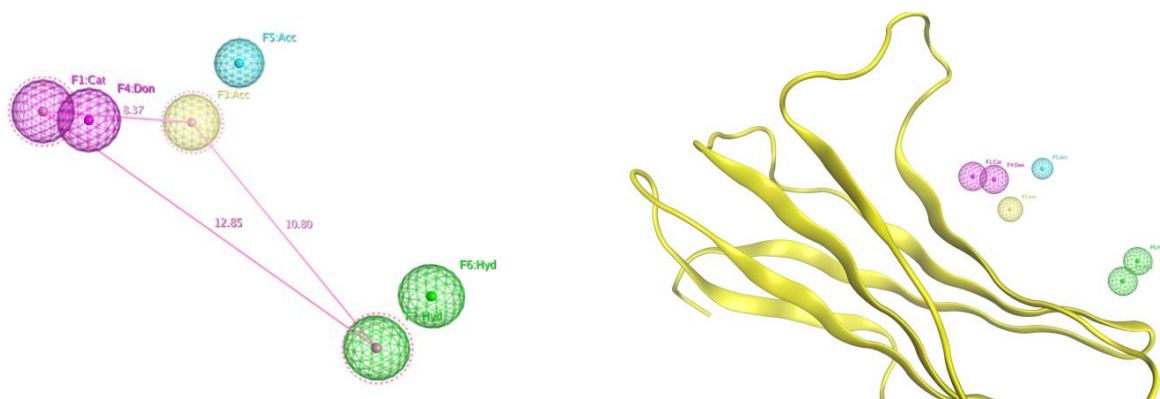
Các mô hình pharmacophore cho chất gắn kết IL-18 α

Tại vị trí 1 (bảng 1) cho mô hình D1 và vị trí 2 (bảng 2) cho mô hình D2. Nhận thấy ở vị trí 1 (mô hình D1) có 4 điểm pharmacophore: Asp17 (*F1: Ani*), Asp35 (*F2: Acc, F3: Acc*), Met33 (*F4: Hyd*). Kết quả thu được mô hình D1 có 5 điểm được thiết lập ràng buộc thỏa mãn ít nhất 4 điểm. Tiến hành giống hàng mô hình ở vị trí 1 (hình 4). Tương tự vị trí 1, ở vị trí 2 cũng có 4 acid amin tạo liên kết với IL-18 α là Lys53,

Met60, Asp54, Ser105 nhưng Ser105 cho điểm gắn kết cách xa so với điểm gắn kết của Lys53 (> 20Å), Asp54 chỉ cho 1 điểm gắn kết quay về phía khoang. Do đó, xuất hiện 6 điểm pharmacophore gồm Lys53 (*F1: Cat, F4: Don*), Met 60 (*F2: Hyd, F6: Hyd*), Asp54 (*F3: Acc, F5: Acc*). Mô hình có 3 điểm bắt buộc là *F1: Cat, F2: Hyd, F3: Acc*; 3 điểm còn lại thiết lập ràng buộc thỏa mãn ít nhất 2 điểm. Mô hình yêu cầu thỏa mãn ít nhất 5 điểm. Tiến hành giống hàng ở vị trí 2 (hình 5).



Hình 4. Mô hình D1 và sự giống hàng mô hình D1 lên IL-18 R α

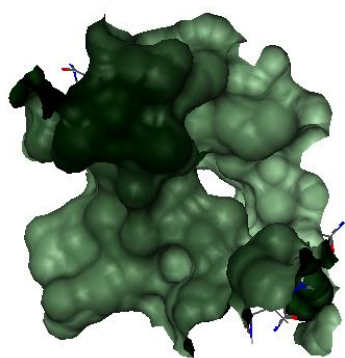


Hình 5. Mô hình D2 và sự giống hàng mô hình D2 lên IL-18 R α

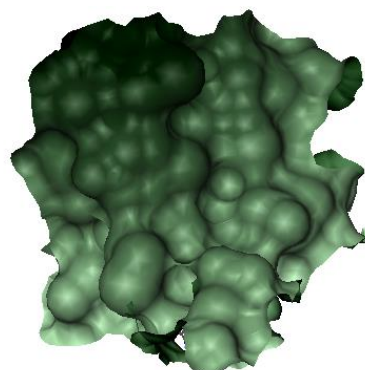
Các mô hình mô tả phân tử docking

Các mô hình mô tả phân tử docking chất gắn kết IL-18: Tại hai vị trí 1 (mô hình Do-A1) và vị trí 2 (mô hình Do-A2). Tại vị trí 1, dùng các acid amin Lys51, Asp54, Met60 cho các khoang

gắn kết lõm sâu, bề mặt gồ ghề và vị trí nhô cao (hình 6). Khác với vị trí 1, vị trí 2 dùng các acid amin Lys53, Asp54, Met60 và cho các khoang gắn kết có bề mặt gồ ghề hơn so với mô hình Do-A1 (hình 7).



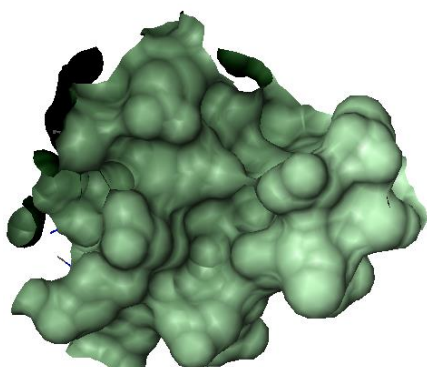
Hình 6. Mô hình mô tả phân tử docking Do-A1



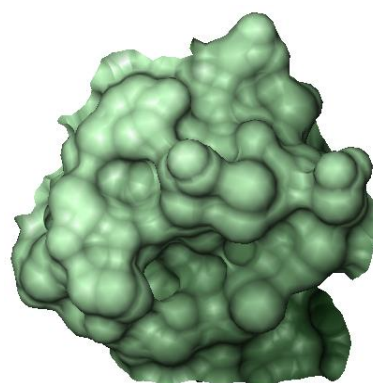
Hình 7. Mô hình mô tả phân tử docking Do-A2

Các mô hình mô tả phân tử docking chất gắn kết IL-18R α : Tương tự như chất gắn kết IL-18 cũng ở hai vị trí 1, 2 tương ứng với mô hình Do-D1 và Do-D2. Tại vị trí 1, các acid amin tạo khoang là Asp17, Asp35, Met33 (hình 8) còn tại vị trí 2 là Tyr248, Trp249, Glu253, Ala301

(hình 9). Kết quả cho thấy các khoang gắn kết Do-D2 có bề mặt gồ ghề, có nhiều rãnh sâu, nhiều chỗ nhô cao, là những vị trí gắn kết của IL-18 và thụ thể IL-18 R α có tiềm năng ức chế IL-18.



Hình 8. Mô hình mô tả phân tử docking Do-D1



Hình 9. Mô hình mô tả phân tử docking Do-D2

Kết quả sàng lọc ảo

Sau khi sàng lọc cơ sở dữ liệu 147.158 cấu trúc bằng các mô hình pharmacophore

và mô hình mô tả phân tử docking ở 2 vị trí (bảng 3) cho thấy số chất thành công tại vị trí 1 cao hơn vị trí 2.

Bảng 3. Tóm tắt kết quả sàng lọc các chất gắn kết IL-18

	Mô hình	Sàng lọc pharmacophore	Docking thành công
Vị trí 1	Do-A1	35	30
	Do-D1	131	123
Vị trí 2	Do-A2	34	26
	Do-D2	47	37

Sàng lọc các chất gắn kết tại vị trí 1

Sàng lọc qua mô hình Do-A1: Kết quả sàng lọc qua pharmacophore thu được 10 chất từ ngân hàng thuốc, 25 chất từ các thư viện mảnh cấu trúc thỏa mãn mô hình, chiếm 0,02 % tập cơ sở dữ liệu. Bên cạnh đó, kết quả sàng lọc qua mô hình Do-A1 thu được 30 chất docking thành công và 5 chất docking không thành công (là các chất từ thư viện mảnh). Trong 30 chất docking thành công, có 11 chất có điểm số docking tốt (< -20 kJ/mol), chất có điểm số docking âm tốt nhất là $-27,47$ kJ/mol. Các chất liên kết tốt với mô hình D1 đều tạo được tương tác với 1 trong 4 acid amin quan trọng trong khoang gắn kết là Arg25, Gln124, Ser127 và Lys128 thông qua liên kết hydro, cầu muối.

Sàng lọc qua mô hình Do-D1: Kết quả khi sàng lọc qua pharmacophore thu được 59 chất từ ngân hàng thuốc, 72 chất từ các thư viện mảnh cấu trúc thỏa mô hình, chiếm 0,09 % tập cơ sở dữ liệu. Tiến hành sàng lọc qua mô hình Do-D1, thu được 123 chất docking thành công với khoang gắn kết gồm các acid amin quan trọng là Asp17, Met 33, Asp35 thông qua liên kết hydro, cầu muối.

Sàng lọc các chất gắn kết IL-18 tại vị trí 2

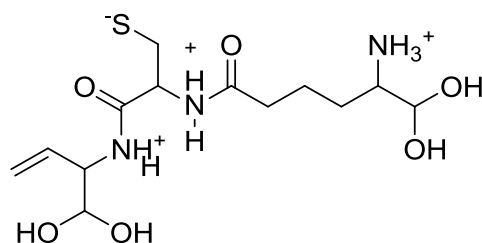
Sàng lọc qua mô hình Do-A2: Sàng lọc qua pharmacophore thu được 17 chất từ ngân hàng thuốc và 17 chất từ các mảnh cấu trúc thỏa mãn mô hình, chiếm 0,05 % tập cơ sở dữ liệu. Kết quả sàng lọc qua mô hình docking thu được 26 chất docking thành công và 8 chất docking không thành công (4 chất từ ngân hàng thuốc, 4 chất từ thư viện mảnh). Tại vị trí 2 có số acid amin được lựa chọn tạo điểm gắn kết ít (3 acid amin). Do đó, số điểm có khả năng tạo mô hình pharmacophore có thể không mang tính chọn lọc cao như ở vị trí 1. Kết quả điểm số docking ở vị trí 2 không cao như ở vị trí 1, số chất docking không thành công cũng cao hơn so với vị trí 1. Trong 26 chất docking thành công, phát hiện 10 chất tiềm năng có khả năng gắn kết tốt trên vị trí 2 của IL-18, có 8 chất tạo tương tác

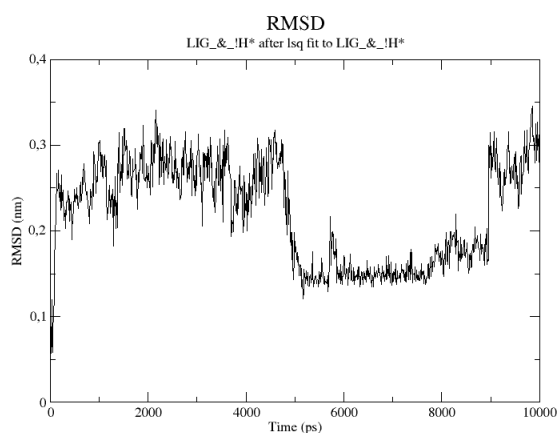
với 2 trong 3 acid amin. Trong đó, Glu253 và Trp249 là 2 acid amin tương tác với IL-18 qua Lys53. Lys53 là acid amin quan trọng trong gắn kết với IL-18R α và IL-18BP.

Sàng lọc qua mô hình Do-D2: Sàng lọc qua pharmacophore thu được 35 chất từ thư viện các mảnh cấu trúc thỏa mãn mô hình, chiếm 0,02 % tập cơ sở dữ liệu. Kết quả của quá trình sàng lọc qua mô hình Do-D2 thu được 37 chất docking thành công trong đó 10 chất đứng đầu mô hình Do-D2 đều tạo được tương tác với các acid amin quan trọng trong khoang gắn kết là Lys53, Asp54, Met60 chủ yếu qua liên kết hydro và kỵ nước.

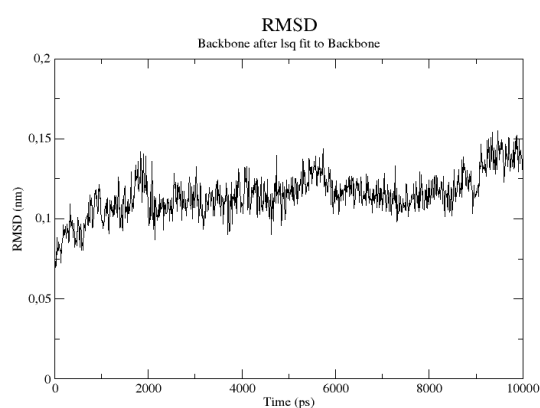
Mô phỏng động học phân tử

Chọn chất có cấu trúc DB02025 là chất có điểm số docking âm nhất và tạo được tương tác với 3 acid amin quan trọng của IL-18 (Asp17, Met33, Asp35) bằng 3 cầu muối và 6 liên kết hydro (Don). Tiến hành khảo sát trong 10 ns cho 2 giá trị RMSD dùng đánh giá sự gắn kết của ligand với protein (hình 10). Trong thời gian khảo sát phức hợp protein-ligand, nhận thấy protein ổn định nhưng ligand chỉ ổn định trong 5 - 7 ns (biên độ dao động tăng lên $> 0,2$ nm). Sau khi xét giá trị RMSF, các nguyên tử trong cấu trúc ligand chưa ổn định khi tương tác với protein. Với các giá trị RMSD, RMSF thu được cho thấy DB02025 có khả năng gắn kết với IL-18 nhưng chưa đạt độ ổn định cao trong khoang gắn kết do cấu trúc gấp khúc ở vị trí 1, có nhiều tương tác cầu muối.





a. RMSD của protein



b. RMSD của ligand

Hình 10. Cấu trúc hóa học DB02025 và giá trị RMSD của protein và ligand trong phức hợp

Kết luận

IL-18 có vai trò quan trọng trong phản ứng miễn dịch của cơ thể chống lại các tác nhân gây nhiễm trùng. Mục tiêu nghiên cứu thuốc điều trị các bệnh lý liên quan đến đáp ứng miễn dịch là ức chế hoạt tính sinh học của IL-18 dựa trên tương tác IL-18/IL-18R α . Nghiên cứu thu được 4 mô hình 3D-pharmacophore (A1, D1, A2, D2) và 4 mô hình mô tả phân tử docking (Do-A1, Do-A2, Do-D1, Do-D2). Từ đó sàng lọc cơ sở dữ liệu gồm 147.158 cấu trúc từ ngân hàng thuốc và các thư viện mảnh cấu trúc thu được kết quả: Mô hình A1 thu được 35 chất, trong đó có 30 chất thỏa mãn mô hình Do-A1. Mô hình A2 thu được 34 chất, trong đó có 26 chất thỏa mãn mô hình Do-A2. Mô hình D1 thu được 131 chất, trong đó có 123 chất thỏa mãn mô hình Do-D1. Mô hình D2 thu được 35 chất, trong đó có 30 chất thỏa mãn mô hình Do-D2. Bên cạnh đó phát hiện chất DB02025 có tiềm năng gắn kết với IL-18 ở vị trí 1 nhưng độ ổn định trong quá trình gắn kết chưa cao. Để đạt được bước tiến lớn hơn trong việc tìm ra chất có cấu trúc phân tử nhỏ có khả năng ức chế hoạt tính IL-18 nên thực hiện mô phỏng động học phân tử cho các chất tiềm năng thỏa mãn các mô hình trong nghiên cứu và dựa trên kết quả mô phỏng động học phân tử, chọn ra các chất có tiềm năng tiến hành thử nghiệm *in vitro*.

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.05-2018.15.

Tài liệu tham khảo

1. S. Lebel-Binay, et al. (2000), *Eur. Cytokine. Netw.*, 11, pp. 15–26.
2. K. K.Washburn, et al. (2008), *Nephrology Dialysis Transplantation.*, 23, pp. 566–572.
3. M. Trøseid, et al. (2010), *Cardiovasc Diabetol.*, 9, pp. 11.
4. S. Wawrocki, et al. (2016), *Acta. Biochim. Pol.*, 63, pp. 59–63.
5. M. Esmailbeig, et al. (2017), *Eur. Cytokine. Netw.*, 28, pp. 127–140
6. H. Wei, et al. (2014), *FEBS. Lett.*, 588, pp. 3838–3843.
7. K. Vanommeslaeghe, et al. (2010), *J. Comput. Chem.*, 31, pp. 671–690
8. V. Zoete, et al. (2011), *J. Comput. Chem.*, 32, pp. 2359–2368.

Sàng lọc ảo các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế Interleukin-33

Lê Minh Trí^{1,2*}, Mai Thành Tấn², Lê Xuân Lộc¹, Vũ Ngọc Diệu Linh²
Trần Thành Đạo², Nguyễn Quốc Thái², Thái Khắc Minh²

¹ Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

² Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Summary

Interleukin-33 (IL-33) is a new cytokine of the IL-1 family. Recently, IL-33 has been reported to be associated with several inflammatory diseases such as asthma, arthritis, and ulcerative colitis. In addition, this cytokine also plays an important role in the pathogenesis of autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, autoimmune enterocolitis, and systemic lupus erythematosus. In this study, virtual screening methods were used to identify natural compounds that can block the protein-protein interaction between IL-33 and its ST2 receptor and inhibit the biological signals of IL-33. A library of natural products named TCM Database@Taiwan with 57,423 compounds was screened through a 3D-pharmacophore model and 403 compounds were identified. These compounds were docked into IL-33 and 33 hits showed good binding affinity with docking score less than -20 kJ/mol. TCM-10291, TCM-18526, and TCM-38482 were identified as potential natural inhibitors with the ability to block with the important residues of the IL-33/ST2 interaction.

Keywords: Interleukin-33, ST2 receptor, virtual Screening, 3D-pharmacophore, docking.

Đặt vấn đề

Interleukin-33 (IL-33) là một cytokin thuộc họ IL-1, tham gia vào các đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thu nhận thông qua tương tác với thụ thể đặc hiệu ST2. IL-33 gắn kết với thụ thể ST2 dẫn đến sự kích hoạt chức năng của các tế bào miễn dịch như đại thực bào, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, bạch cầu ái kiềm, tế bào mast và các tế bào lympho^[1]. IL-33 đã được chứng minh là có liên quan đến các bệnh viêm và tự miễn. IL-33 thúc đẩy phản ứng viêm và có vai trò trong sinh bệnh học của hen suyễn, viêm khớp, viêm loét đại tràng^[2]. Nồng độ của IL-33 và thụ thể ST2 của nó tăng lên trong huyết tương của các bệnh nhân mắc bệnh tự miễn như viêm khớp dạng thấp, đa xơ cứng, viêm ruột tự miễn và lupus ban đỏ hệ thống. Sự tăng nồng độ này tỉ lệ thuận với mức độ nặng của bệnh^[3]. Ngoài ra, IL-33 cũng liên quan đến các bệnh lý của hệ thần kinh trung ương. IL-33 và thụ thể ST2 biểu hiện mạnh mẽ ở khu vực

lân cận các mảng amyloid các đám rối sợi thần kinh trong não của bệnh nhân Alzheimer^[4]. Như vậy, IL-33 là một đích tác động mới và tiềm năng để điều trị các bệnh viêm và tự miễn. Tuy nhiên, hiện nay chưa có thuốc nào được chấp thuận để điều trị các bệnh nói trên theo cơ chế ức chế IL-33.

Các đáp ứng sinh học bởi IL-33 được kích hoạt bởi sự tương tác protein-protein của nó với thụ thể ST2. Cấu trúc 3 chiều của IL-33 ở người đã được xác định bằng các phương pháp như cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)^[5] và chụp nhiễu xạ tinh thể tia X^[6]. Bên cạnh đó, các thử nghiệm đột biến điểm và xác định ái lực gắn kết đã được thực hiện trên IL-33 để xác định những acid amin đóng vai trò quan trọng cho sự gắn kết của nó với thụ thể ST2. Đây là những cơ sở để các nghiên cứu thiết kế thuốc ức chế IL-33 được thực hiện. Tuy nhiên, khám phá thuốc mới là một quá trình lâu dài và tiêu tốn nhiều chi phí. Với sự trợ giúp của máy tính, những khó khăn này sẽ được khắc phục. Các thư viện hợp chất tự nhiên là một nguồn cấu trúc hóa học đa dạng và đóng một vai trò quan trọng trong khám phá thuốc mới. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm kiếm các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên và có khả năng gắn kết với IL-33 bằng các phương pháp sàng lọc ảo trên máy tính.

Chịu trách nhiệm: Lê Minh Trí

Email: leminhtri@ump.edu.vn

Ngày nhận: 16/10/2020

Ngày phản biện: 23/10/2020

Ngày duyệt bài: 30/10/2020

Sự thành công của nghiên cứu sẽ ban đầu xác định các chất có tiềm năng ức chế cytokin này để đưa vào các giai đoạn tiếp theo của quá trình khám thuốc như phân lập, đánh giá hoạt tính và tối ưu hóa cấu trúc.

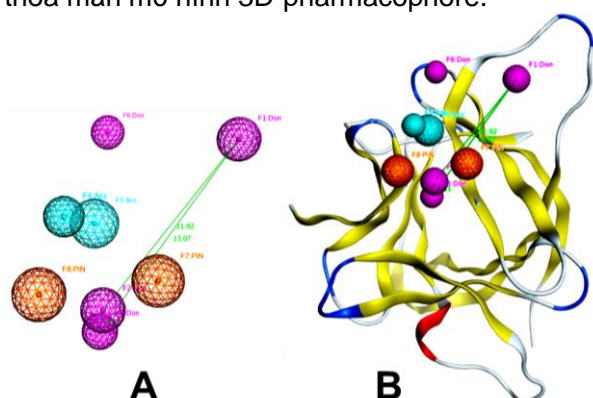
Phương pháp nghiên cứu

Cơ sở dữ liệu

Cơ sở dữ liệu các hợp chất tự nhiên được sử dụng trong nghiên cứu này là thư viện TCM Database@Taiwan. Thư viện này là cơ sở dữ liệu lớn nhất thế giới chứa các hợp chất được phân lập từ các thuốc cổ truyền của Trung Hoa [7]. Cấu trúc 3 chiều (3D) của các hợp chất được tải về dưới định dạng *.sdf từ trang web <http://tcm.cmu.edu.tw> để chuẩn bị cho quá trình sàng lọc ảo.

Sàng lọc ảo qua mô hình 3D-pharmacophore

Trong nghiên cứu trước của chúng tôi, các mô hình 3D-pharmacophore đã được xây dựng dựa trên cấu trúc của IL-33/ST2 để giúp sàng lọc các chất ức chế IL-33 (hình 1) [8]. Vì có khả năng sàng lọc nhanh chóng qua cơ sở dữ liệu lớn, các mô hình 3D-pharmacophore này được sử dụng để sàng lọc đầu tiên qua thư viện TCM Database@Taiwan nhằm xác định các hợp chất tự nhiên có các đặc tính phù hợp để ức chế IL-33. Các đặc tính này bao gồm khả năng cho nhận liên kết hydro và tính kỵ nước. Trước khi quá trình sàng lọc được tiến hành, toàn bộ các chất trong thư viện TCM phải được tạo cấu dạng bằng công cụ Conformation Import của phần mềm Molecular Operating Environment (MOE) 2014.09 [9]. Sau đó, công cụ Pharmacophore Search của phần mềm MOE 2014.09 được sử dụng để tìm các cấu dạng thỏa mãn mô hình 3D-pharmacophore.



Hình 1. Mô hình 3D-pharmacophore để tìm kiếm chất ức chế IL-33 (A) và sự giống hệt của mô hình này trên cấu trúc 3D của IL-33 (B)

Sàng lọc qua mô hình docking phân tử

Cấu trúc tinh thể của IL-33 đồng kết tinh với thụ thể ST2 đã được chụp bằng phương pháp nhiễu xạ tia X và công bố tại Ngân hàng dữ liệu protein (mã PDB: 4KC3) [10] được sử dụng để xây dựng mô hình docking phân tử trong nghiên cứu này. Xi Liu và CS. (2013) đã chỉ ra các acid amin quan trọng giúp IL-33 gắn kết với thụ thể là Glu144, Glu148 và Asp244 bằng phương pháp đột biến và xác định ái lực gắn kết [6].

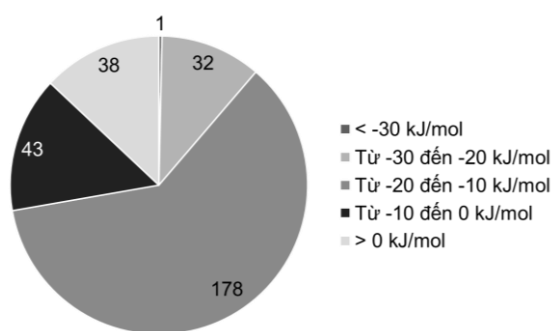
Để xây dựng mô hình docking phân tử, cấu trúc 3D của protein IL-33 được chuẩn bị bằng công cụ QuickPrep trong phần mềm MOE 2014.09, gồm các quá trình như: thêm hydro, proton hóa và tích điện cho các acid amin, cố định các nguyên tử và tối thiểu hóa năng lượng. Protein đã được chuẩn bị sau đó được đưa vào phần mềm LeadIT 2.1.8 [11] để xây dựng mô hình docking phân tử. Vị trí của các acid amin quan trọng được lựa chọn và một khoang được mở rộng với bán kính 14 Å để tạo thành mô hình gắn kết cho chất ức chế IL-33. Mô hình docking phân tử này được sử dụng để đánh giá khả năng gắn kết của các chất đã được sàng lọc ban đầu qua mô hình 3D-pharmacophore. Các thông số cho quá trình docking được thiết lập gồm số cấu dạng (pose) giữ lại là 10, số lần tối đa cho mỗi lần lặp lại là 1000 và số lần tối đa cho việc bẻ gãy cấu trúc là 200.

Điểm số docking (kJ/mol) được dùng để đánh giá khả năng gắn kết và xếp hạng các chất được sàng lọc. Tuy nhiên, việc phân tích các tương tác giữa protein–ligand giữ vai trò trong việc khẳng định là các ligand có thực sự tạo được tương tác với các acid amin quan trọng hay không. Các tương tác được phân tích bao gồm liên kết hydro, liên kết aren-aren (π - π), cation-aren (cation- π), các tương tác bề mặt *van der Waals* được phát hiện bởi sự tiếp xúc của các bề mặt thân nước, kỵ nước và tương tác dung môi.

Kết quả và bàn luận

Sàng lọc ảo

Từ tổng số 57.423 hợp chất tự nhiên thu thập được từ thư viện TCM Database@Taiwan được sàng lọc qua mô hình 3D-pharmacophore, có 403 hợp chất thỏa mãn mô hình. Các chất này tiếp tục được dock vào IL-33 và kết quả có 292 chất dock thành công (72,5%).



Hình 2. Sự phân bố điểm số docking của 292 chất có khả năng gắn kết in silico với IL-33

Điểm số docking được sử dụng đầu tiên để đánh giá khả năng gắn kết của các hợp chất tự nhiên với IL-33. Hình 2 thể hiện sự phân bố điểm số docking của 292 chất dock thành công vào protein. Trong đó, có 254 chất có điểm số docking âm, thể hiện khả năng gắn kết tốt và 38 chất có điểm số docking dương, phản ánh khả năng gắn kết kém. Trong số các chất có điểm số docking âm, phần lớn các chất (178) có điểm số trong khoảng -20 đến -10 kJ/mol. Có 33 chất có điểm số docking ≤ -20 kJ/mol. Đặc biệt, có một hợp chất có điểm số rất âm, -34,20 kJ/mol. Danh sách tên mã hóa trong thư viện TCM và điểm số docking của các hợp chất tự nhiên này được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Các hợp chất tự nhiên có khả năng gắn kết in silico trên IL-33 với điểm số docking ≤ -20 kJ/mol

Xếp hạng	Tên mã hóa	Điểm số docking (kJ/mol)	Xếp hạng	Tên mã hóa	Điểm số docking (kJ/mol)
1	TCM-10291	-34,20	18	TCM-37242	-21,46
2	TCM-56826	-27,02	19	TCM-28255	-21,39
3	TCM-41120	-26,59	20	TCM-56943	-21,31
4	TCM-18526	-26,29	21	TCM-41138	-21,25
5	TCM-37091	-24,32	22	TCM-50775	-21,25
6	TCM-2996	-23,54	23	TCM-32627	-21,06
7	TCM-31012	-23,54	24	TCM-31223	-20,87
8	TCM-37003	-23,29	25	TCM-56811	-20,78
9	TCM-41112	-23,22	26	TCM-56878	-20,66
10	TCM-11756	-23,06	27	TCM-12144	-20,42
11	TCM-41128	-23,05	28	TCM-50809	-20,25
12	TCM-38482	-22,84	29	TCM-50537	-20,16
13	TCM-41137	-22,72	30	TCM-38073	-20,14
14	TCM-42945	-21,71	31	TCM-38072	-20,06
15	TCM-37528	-21,64	32	TCM-5397	-20,05
16	TCM-35443	-21,62	33	TCM-7465	-20,00
17	TCM-41119	-21,53			

Các hợp chất tự nhiên có tiềm năng nhất ức chế IL-33

Bên cạnh điểm số docking, sự tương tác giữa các hợp chất tự nhiên nói trên với các acid amin quan trọng của IL-33 tại vị trí gắn kết với thụ thể ST2 cũng được đánh giá. Các chất có khả năng khóa các acid amin quan trọng của IL-33 sẽ giúp ngăn cản sự tương tác giữa IL-33 và ST2, từ đó ngăn chặn các tín hiệu sinh học của IL-33 và giúp điều trị các bệnh lý liên quan. Các chất sau đây thể hiện tiềm năng ức chế trên

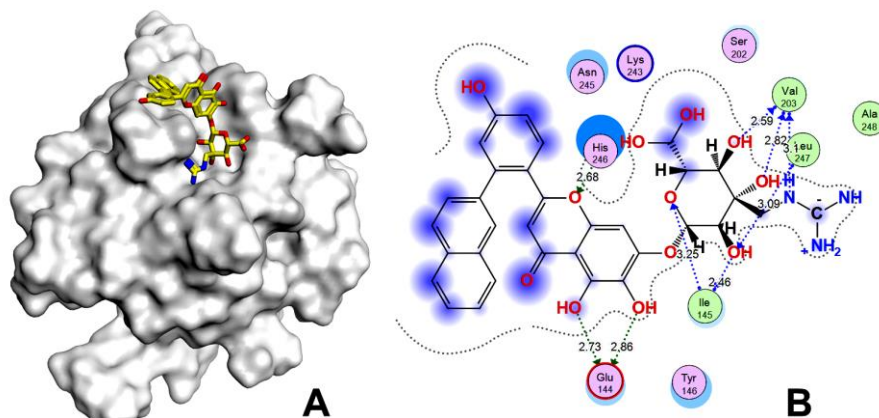
IL-33 với điểm số docking âm và khả năng liên kết với các acid amin quan trọng.

TCM-10291

Đây là hợp chất tự nhiên dock thành công vào IL-33 với điểm số docking âm nhất (-34,20 kJ/mol) so với toàn bộ các chất trong cơ sở dữ liệu. Cấu dạng gắn kết của TCM-10291 với IL-33 được minh họa ở hình 3A. Trong đó, chất này tạo được 2 liên kết hydro với acid amin quan trọng là Glu144 bởi 2 nhóm OH phenol với độ dài liên kết lần lượt là 2,73 và 2,86 Å và

năng lượng liên kết lần lượt là -4 và -5,6 kcal/mol. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng khi Glu144 bị ức chế, ái lực gắn của IL-33 với thụ thể ST2 giảm từ 2-3 lần^[5, 6]. Sự tương tác của TCM-10291 với Glu144 gợi ý rằng đây là chất

có tiềm năng ức chế tốt IL-33. Ngoài ra, chất này còn tương tác với những acid amin khác như Ile145, Val203, His246 và Leu247 thông qua các liên kết hydro.

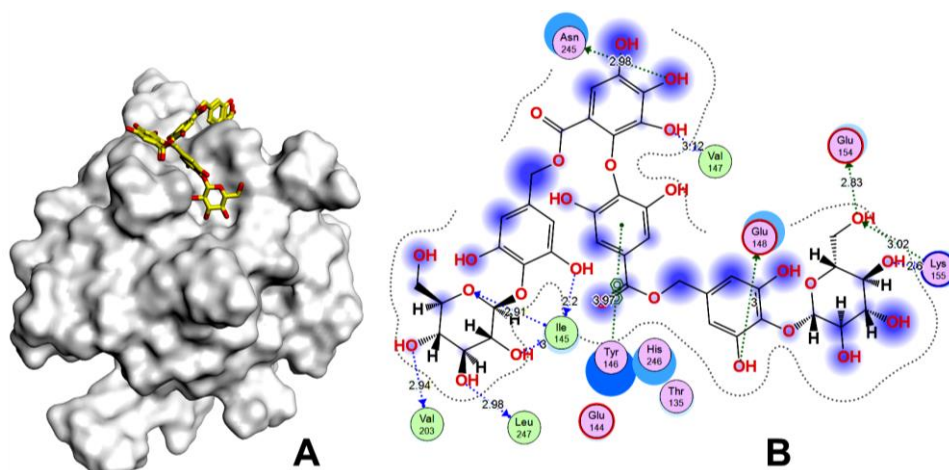


Hình 3. Cấu dạng gắn kết của TCM-10291 với IL-33 (A) và sự tương tác với các acid amin trong khoang gắn kết (B)

TCM-18526

TCM-18526 có tên thông thường là isochestantin, được phân lập từ một loài lê trắng của Trung Quốc có tên khoa học là *Pyrus bretschneideri*. Chất này có điểm số docking -26,29 kJ/mol và có khả năng tương tác với acid amin quan trọng nhất trong sự tương tác giữa IL-33 và ST2 là Glu148 (hình 4). Nhóm OH phenol của TCM-18526 cho liên kết hydro đối với Glu148 với độ dài liên kết là 3 Å và năng lượng liên kết là -2,1 kcal/mol. Các nghiên cứu

đã chỉ ra rằng khi Glu148 bị ức chế, ái lực gắn kết của IL-33 với thụ thể ST2 giảm đến 7 lần^[6]. Bên cạnh đó, TCM-18526 còn tạo nhiều tương tác với các acid amin khác trong khoang gắn kết như liên kết hydro với Ile145, Glu154, Lys155, Val203, Asn245, Leu247 và tương tác π - π với Tyr146. Các kết quả này cho thấy TCM-18526 cũng là một hợp chất tự nhiên tiềm năng có khả năng ức chế IL-33.

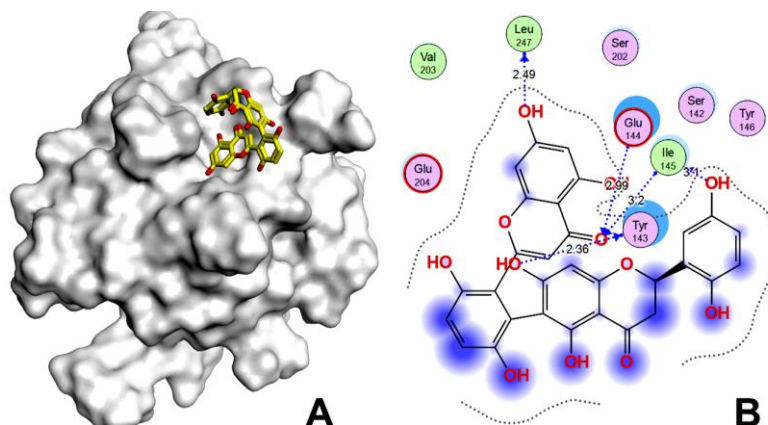


Hình 4. Cấu dạng gắn kết của TCM-18526 với IL-33 (A) và sự tương tác với các acid amin trong khoang gắn kết (B)

TCM-38482

TCM-38482 là hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ một dược liệu họ Hoa môi có tên khoa học *Scutellaria amabilis*. Chất này dock thành công vào IL-33 với điểm số -22,84 kJ/mol

và có nhóm carbonyl tạo được một liên kết hydro với acid amin quan trọng là Glu144. Liên kết này có độ dài 2,99 Å và năng lượng -1,3 kcal/mol.



Hình 5. Cấu dạng gắn kết của TCM-38482 với IL-33 (A) và sự tương tác với các acid amin (B)

Kết luận

Từ hơn 50 ngàn hợp chất tự nhiên được thu thập từ thư viện các hợp chất được phân lập từ thuốc cổ truyền Trung Hoa, bằng các phương pháp *in silico* như 3D-pharmacophore và docking phân tử, nghiên cứu đã xác định được 33 chất có khả năng gắn kết tốt với IL-33 thể hiện qua điểm số docking âm hơn -20 kJ/mol. Trong đó, có 3 hợp chất tiềm năng nhất là TCM-10291, TCM-18526 và TCM-38482 có khả năng tương tác với các acid amin quan trọng của IL-33, qua đó cản trở sự tương tác của protein này với thụ thể ST2 và ngăn chặn các đáp ứng sinh học liên quan đến các bệnh viêm và tự miễn.

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số C2018-44-01 cho Lê Minh Trí. Mai Thành Tấn được hỗ trợ bởi chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF) mã số VINIF.2019.TS.59.

Tài liệu tham khảo

1. Chen W. Y., et al. (2018), *Cell. Physiol. Biochem.*, 49 (1), pp. 349-358.
2. Palmer G., et al. (2011), *Nat. Rev. Rheumatol.*, 7, pp. 321-329.
3. Pei C., et al. (2013), *Immunology*, 141, pp. 9-17.
4. Xiong Z., et al. (2014), *J. Alzheimers Dis.*, 40 (2), pp. 297-308.
5. Lingel A., et al. (2009), *Structure*, 17 (10), pp. 1398-1410.
6. Liu X., et al. (2013), *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 110 (37), pp. 14918-14923.
7. Chen C. Y. C. (2011), *PLoS One*, 6 (1), pp. e15939.
8. Le M. T., et al. (2020), *SAR QSAR Environ. Res.*
9. Inc. C. C. G., Molecular Operating Environment 2014.09, <https://www.chemcomp.com/> (truy cập ngày 15/08/2019).
10. Berman H. M., et al. (2000), *Nucleic Acids Res.*, 28, pp. 235-242.
11. BioSolveIT GmbH, LeadIT version 2.1.8, <http://www.biosolveit.de/LeadIT/> (truy cập ngày 10/12/2019).

Sàng lọc *in silico* các cấu trúc phân tử nhỏ ức chế hoạt tính interleukin-17A trong điều trị các bệnh tự miễn

Nguyễn Lê Anh Tuấn^{1,2}, Hoàng Việt Nhâm², Mai Thành Tấn¹
Bùi Thị Hoàng Linh¹, Võ Nguyễn Quỳnh Hương¹, Nguyễn Ngọc Lê³
Thái Khắc Minh¹, Trần Thành Đạo¹, Lê Minh Trí^{1,4*}

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

³Trường Đại học Nam Cần Thơ

⁴Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Summary

The development of IL-17A inhibitors is a new method in the treatment of autoimmune diseases. In this study, *in silico* models for screening small molecular structures capable of inhibiting IL-17A activity are developed to design new medicines for autoimmune diseases.

The study built four 3D-pharmacophore models and performed docking process on IL-17A and its receptor. Virtual screening from 22.951.220 substances were conducted based on the developed *in silico* models. A total of 1.565 compounds matched the 3D-Pharmacophore models, with 1.550 ligands successfully docked, and 5 compounds molecular dynamically simulated and initially showing a high potential for inhibiting IL-17A activity.

Keywords: IL-17A, *in silico*, virtual screening, 3D-Pharmacophore, docking, molecular dynamics simulations.

Đặt vấn đề

Bệnh tự miễn là bệnh do sự hình thành các kháng thể tự miễn kháng lại các thành phần mô cơ quan, gây tổn thương các cơ quan theo nhiều cơ chế khác nhau. Hiện nay bệnh tự miễn khá phổ biến. Theo thống kê của Hiệp hội Bệnh tự miễn Hoa Kỳ, đến tháng 7/2018 có hơn 50 triệu người Mỹ mắc bệnh tự miễn ^[1]. Cytokine đóng vai trò then chốt trong sinh bệnh học của các bệnh tự miễn ^[2]. Interleukin-17A (IL-17A) là một cytokine đa chức năng có vai trò trong điều hòa miễn dịch. Hiện nay, các công trình nghiên cứu về phân tử nhỏ ức chế hoạt tính của IL-17A trên thế giới chưa nhiều và hiện chưa có thuốc phân tử nhỏ nào ức chế tương tác IL-17A và thụ thể của IL-17A là IL-17RA. Vì vậy, việc nghiên cứu để tìm kiếm phân tử nhỏ có khả năng ức chế

protein này là cần thiết, mở ra cơ hội điều trị những bệnh viêm và bệnh tự miễn với một cơ chế mới. Tuy nhiên, phát triển thuốc mới là một quá trình lâu dài và tốn kém. Việc thử nghiệm hoạt tính *in vitro* của cơ sở dữ liệu lớn các hợp chất trên IL-17A/IL-17RA đòi hỏi kinh phí lớn và thời gian dài. Vì vậy, việc xây dựng mô hình *in silico* để sàng lọc các cấu trúc phân tử nhỏ có khả năng ức chế hoạt tính IL-17A, dựa trên tương tác IL-17A/IL-17RA là cần thiết, từ đó định hướng cho việc thiết kế và tổng hợp các thuốc điều trị những bệnh viêm và bệnh tự miễn thể hệ mới trong tương lai.

Phương pháp nghiên cứu

Quá trình sàng lọc *in silico* các cấu trúc phân tử nhỏ ức chế hoạt tính interleukin-17A được thực hiện theo trình tự các bước: Xây dựng mô hình 3D-pharmacophore; Xây dựng mô hình mô tả phân tử docking, sàng lọc ảo trên cơ sở dữ liệu và cuối cùng là mô phỏng động lực học phân tử. Do sự tương tác giữa IL-17A và thụ thể IL-17RA xảy ra chủ yếu tại vùng ii và vùng iii nên mô hình 3D-pharmacophore được xây dựng

Chịu trách nhiệm: Lê Minh Trí

Email: leminhtri@ump.edu.vn

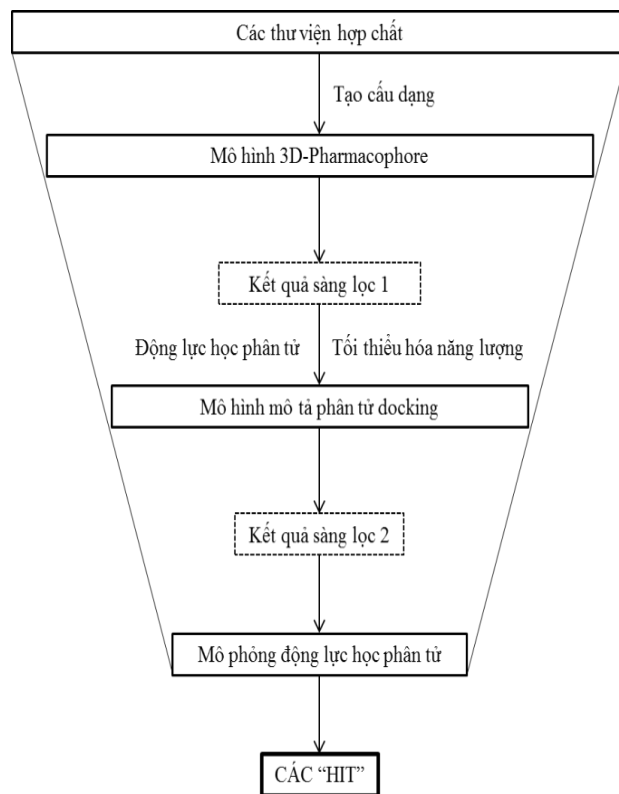
Ngày nhận: 20/8/2020

Ngày phản biện: 26/8/2020

Ngày duyệt bài: 29/10/2020

dựa trên tương tác giữa các acid amin quan trọng của IL-17A và IL-17RA tại hai vùng này [3], sử dụng phần mềm MOE 2015.10 (Molecular Operating Environment) do Chemical Computing Group phát triển [5]. Cấu trúc 3D của IL-17A và thụ thể IL-17RA được cung cấp trên Protein Data Bank (PDB) với mã PDB: 4HSA. Cơ sở dữ liệu được tải về từ ngân hàng thuốc và các thư viện hợp chất ở định dạng *.sdf sẽ được tạo các cấu dạng từ cấu trúc bằng phần mềm MOE 2015.10. Cấu trúc protein với mã PDB: 4HSA được sử dụng cho mô hình docking. Xóa tất cả nước trong cấu trúc protein bằng công cụ Sequence Editor của MOE 2015.10. Sau đó, sử dụng công cụ QuickPrep để sửa chữa cấu trúc protein, proton hóa 3D. Các phân tử ligand được lấy từ kết quả sàng lọc qua các mô hình 3D-pharmacophore và tối thiểu hóa năng lượng lần 1, sau đó được tiến hành động lực học phân tử và tối thiểu hóa năng lượng một lần nữa trong Sybyl-X 2.0 để thu được các cấu trúc có năng lượng tối thiểu toàn phần chuẩn bị cho docking. Công cụ FlexX trong phần mềm LeadIT 2.0.2 [4] được sử dụng để thực hiện phương pháp docking cho kết quả gồm các cấu dạng gắn kết và điểm số tương ứng (năng lượng gắn kết). Kết quả này sẽ được phân tích với sự hỗ trợ của công cụ Ligand Interactions của phần mềm MOE 2015.10 [5] để đánh giá khả năng gắn kết của các ligand. Các hợp chất sử dụng trong quá trình sàng lọc ảo sẽ được cung cấp từ thư viện bao gồm ChemDiv Fragments Library, Drug Bank Database, Maybridge PPI Library, Maybridge Fragments Collection, Maybridge Screening Collection, Maybridge Screening Fragments Collection, Traditional Chinese Medicine Database và Thư viện Zinc. Quy trình sàng lọc ảo được tiến hành theo các bước như hình 1.

Cấu dạng gắn kết của một số chất có khả năng gắn kết tốt (thông qua điểm số docking) với IL-17A hoặc IL-17RA tại các acid amin quan trọng được chạy mô phỏng động học (Molecular Dynamics Simulation) để chứng minh khả năng gắn kết của hợp chất với IL-17A hoặc IL-17RA. Kết quả mô phỏng động lực học phân tử được đánh giá thông qua các thông số RMSD (căn bậc hai độ lệch trung bình bình phương), RMSF (căn bậc hai độ dao động trung bình bình phương) của protein và ligand.



Hình 1. Quy trình sàng lọc ảo

Kết quả và bàn luận

Mô hình 3D-pharmacophore

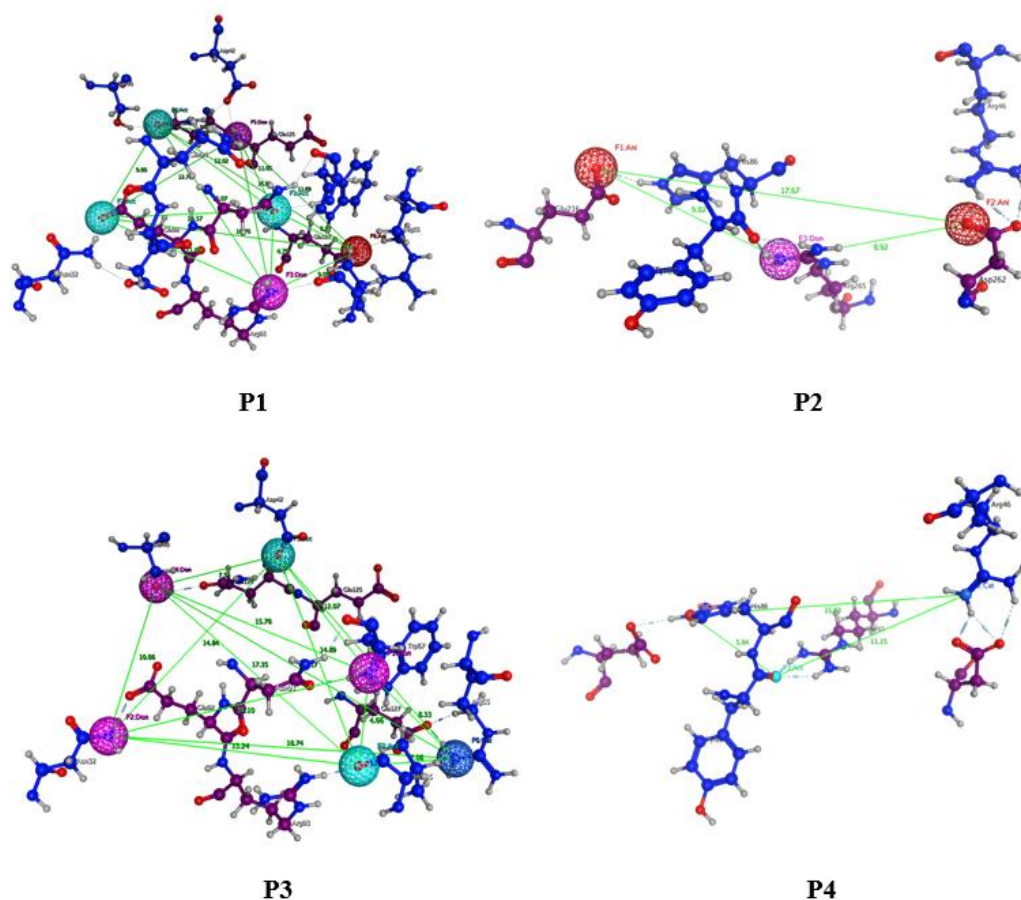
Nghiên cứu xây dựng được 4 mô hình 3D-pharmacophore bao gồm:

P1: Mô hình cho chất gắn kết IL-17A tại vùng ii. Chọn lọc được sáu điểm để xây dựng mô hình 3D-pharmacophore bốn điểm. Trong đó, hai điểm bắt buộc đại diện cho nhóm nhận liên kết hydro và nhóm tích điện âm.

P2: Mô hình cho chất gắn kết IL-17A tại vùng iii: mô hình 3D-pharmacophore 3 điểm. Trong đó, 2 điểm đại diện cho nhóm tích điện âm, 1 điểm đại diện cho nhóm cho liên kết hydro.

P3: Mô hình cho chất gắn kết IL-17RA tại vùng ii: mô hình 3D-pharmacophore bốn điểm; trong đó, hai điểm bắt buộc đại diện cho nhóm cho liên kết hydro và nhóm tích điện dương đại diện cho nhóm cho liên kết nhóm tích điện.

P4: Mô hình cho chất gắn kết IL-17RA tại vùng iii: mô hình 3D-pharmacophore 3 điểm. Trong đó, 2 điểm đại diện cho nhóm tích điện dương, 1 điểm đại diện cho nhóm nhận liên kết hydro.



Hình 2. Các mô hình 3D-pharmacophore

Mô hình mô tả phân tử docking

Nghiên cứu xây dựng 4 mô hình mô tả phân tử docking:

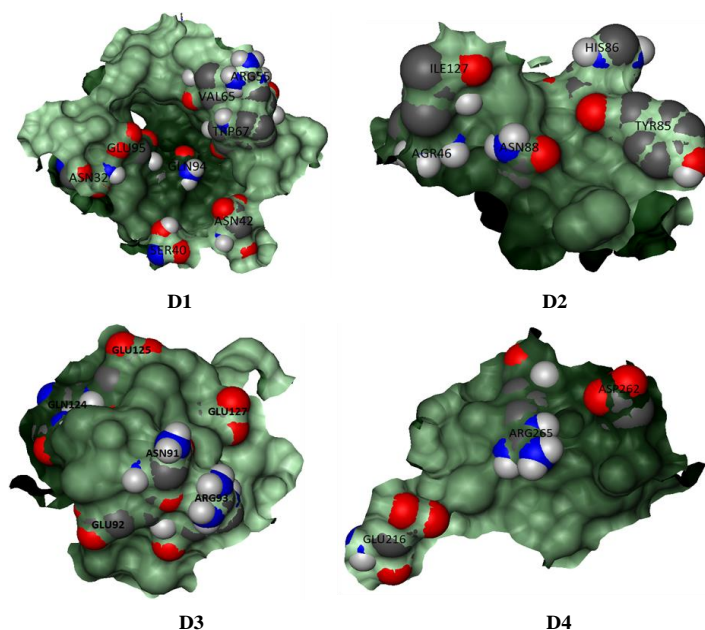
D1: Mô hình mô tả phân tử docking trên IL-17A tại vùng ii, các acid amin quan trọng để tạo khoang gắn kết là Asn32, Ser40, Asp42, Arg55, Val65, Trp67. Bán kính cần mở để bao phủ toàn bộ các acid amin này là 11,5 Å. Mô hình D1 có khoang gắn kết tương đối sâu, ngoài ra có 2 acid amin quan trọng khác ở chuỗi A là Gln94 và Glu95 nằm trong khoang.

D2: Mô hình mô tả phân tử docking trên IL-17A tại vùng iii, các acid amin được chọn để tạo khoang gắn kết là Arg46 (chuỗi B), Tyr85 (chuỗi A), His86 (chuỗi A). Bán kính cần mở để bao phủ toàn bộ các acid amin này là 8 Å. Mô hình D2 có khoang gắn kết nông, với bề mặt

gồ ghề, uốn lượn với mật độ điện tích âm cao (màu đỏ).

D3: Mô hình mô tả phân tử docking trên IL-17RA tại vùng ii, các acid amin quan trọng được chọn để tạo khoang gắn kết là Asn91, Glu92, Arg93, Gln124, Glu125, Glu127. Bán kính cần mở để bao phủ toàn bộ các acid amin này là 8.5 Å. Mô hình D3 có bề mặt gồ ghề hơn so với các mô hình khác.

D4: Mô hình mô tả phân tử docking trên IL-17RA tại vùng iii, các acid amin quan trọng được chọn để tạo khoang gắn kết là Glu216, Asp262, Arg265. Bán kính cần mở để bao phủ toàn bộ các acid amin này là 8.5 Å. Mô hình D4 có bề mặt gồ ghề, Arg265 nằm giữa Glu216 và Asp262.



Hình 3. Các mô hình mô tả phân tử docking

Sàng lọc ảo trên cơ sở dữ liệu

Kết quả sàng lọc qua mô hình 3D-pharmacophore

Tiến hành sàng lọc cơ sở dữ liệu 22.951.220 chất từ các thư viện. Kết quả thu được 1.565 chất thỏa mãn các mô hình 3D-pharmacophore được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả sàng lọc qua mô hình 3D-pharmacophore

Mô hình	Thư viện hợp chất					Tổng
	CF	DB	MB	TCM	ZINC	
P1	0	1	0	68	68	137
P2	0	4	0	7	862	873
P3	0	0	0	31	33	64
P4	0	9	1	53	428	491
Tổng						1.565

Kết quả sàng lọc qua mô hình mô tả phân tử docking

Nghiên cứu tiến hành docking 1.565 chất thỏa mãn các mô hình 3D-pharmacophore

thu được tổng cộng 1.550 chất thỏa mãn các mô hình mô tả phân tử docking, 15 chất dock không thành công. Kết quả cụ thể được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả docking

Mô hình	Kết quả docking	Thư viện hợp chất				Tổng
		DB	MB	TCM	ZINC	
D1	Dock thành công	1	0	65	67	133
	Không dock được	0	0	3	1	4
D2	Dock thành công	3	0	6	861	870
	Không dock được	1	0	1	1	3
D3	Dock thành công	0	0	29	33	62
	Không dock được	0	0	2	0	2
D4	Dock thành công	7	1	52	425	485
	Không dock được	2	0	1	3	6
Tổng	Dock thành công					1.550
	Không dock được					15

Hầu hết các chất đều có điểm số docking âm, trong đó có một số chất có điểm số docking rất âm (< -30 kJ/mol) cho thấy khả năng gắn kết rất tốt với IL-17A, IL-17RA. Bên cạnh điểm số docking âm, xét về sự tương tác với các acid amin quan trọng, tất cả các chất docking thành công đều tương tác với ít nhất 1 acid amin quan trọng, trong đó có một số chất tương tác với toàn bộ các acid amin quan trọng.

Trên tổng số 1550 chất dock thành công, nghiên cứu tiến hành phân tích tương tác của các chất có điểm số docking < -20 kJ/mol. Mô hình D1 thu được 10 chất tiềm năng có khả năng gắn kết tốt trên vùng ii của IL-17A: TCM7478, ZINC04343609, TCM1218, ZINC19340741, ZINC36357505, ZINC31494289, TCM4734, ZINC13031939, ZINC72461250, TCM7479. Mô hình D2 thu được 10 chất tiềm năng có khả năng gắn kết tốt trên vùng iii của IL-17A: ZINC33809499, ZINC33809498, ZINC20527383, ZINC27520020, ZINC16399737, ZINC08771672, ZINC08872811, ZINC40658475, ZINC40658170, ZINC72107484. Mô hình D4 thu được 10 chất tiềm năng có khả năng gắn kết tốt trên vùng iii của IL-17RA: ZINC67351070, ZINC72370085, ZINC59447528, ZINC14277261, ZINC43190946, ZINC40658448, ZINC09948933, ZINC40658702, ZINC93994063, DB0007. Ở mô hình D3, do có bề mặt gồ ghề hơn nên khả năng tương tác khó khăn hơn, điểm số docking cao hơn so với các mô hình khác. Nghiên cứu tiến hành phân tích tương tác của các chất có điểm số docking < -10 kJ/mol thu được 10 chất tiềm năng có khả năng gắn kết tốt trên vùng ii của IL-17RA: ZINC83310861, ZINC58315733, TCM688, TCM691, ZINC38655083, ZINC38655077, ZINC09926440, TCM645, TCM632, TCM4653.

Mô phỏng động lực học phân tử

Để đánh giá chính xác hơn khả năng gắn kết, các chất tiềm năng (được lựa chọn dựa trên điểm số docking tốt và sự tương tác với các acid amin quan trọng) được tiến hành mô phỏng động lực học phân tử trong thời gian 10 ns. Các chất được chọn bao gồm: ZINC04343609, ZINC31494289, ZINC33809499, ZINC08872811, ZINC67351070.

Mô phỏng động lực học phức hợp IL-17A/ZINC04343609

ZINC04343609 gắn kết tốt tại vùng ii của IL-17A, điểm số docking $-31,7268$ kJ/mol và tương tác với 4 acid amin quan trọng là Val65, Trp67, Gln94, Glu95. Giá trị RMSD của ligand dao động trong khoảng 0,06-0,18 nm trong quá trình mô phỏng cho thấy ligand gắn kết ổn định trong túi gắn kết. Giá trị RMSD của protein dao động tăng dần từ 0,12 nm đến 0,33 nm trong 10 ns, cần thời gian mô phỏng lâu hơn để xác định sự ổn định của protein. Giá trị RMSF các nguyên tử của ligand tương đối ổn định, ít linh động, trong khoảng 0,027-0,14 nm.

Mô phỏng động lực học phức hợp IL-17A/ZINC31494289

ZINC31494289 gắn kết tốt tại vùng ii của IL-17A với điểm số docking $-25,6257$ kJ/mol và tương tác với 5 acid amin quan trọng là Arg55, Val65, Trp67, Gln94, Glu95. Giá trị RMSD của ligand tăng dần từ 0,13 nm đến 0,28 nm trong khoảng 2 ns đầu, sau đó ổn định trong khoảng 0,25 nm trong thời gian cuối của quá trình mô phỏng. Giá trị RMSD của protein dao động tăng dần từ 0,11 nm đến 0,35 nm trong 5 ns đầu, sau đó ổn định ở 2,5 nm trong thời gian cuối của quá trình mô phỏng, cần thời gian mô phỏng lâu hơn để xác định sự ổn định của protein. Giá trị RMSF các nguyên tử của ligand cho thấy tương đối ổn định, ít linh động, ngoại trừ các nguyên tử O ở các vị trí 31, 32, 33. RMSF khoảng 0,025 - 0,25 nm.

Mô phỏng động lực học phức hợp IL-17A/ZINC33809499

ZINC33809499 là một trong số các chất gắn kết tốt tại vùng iii của IL-17A với điểm số docking $-31,1670$ và tương tác với 3 acid amin quan trọng là Arg46, Asn88, Ile127. Giá trị RMSD của ligand dao động trong khoảng 0,13-0,25 nm và ổn định trong khoảng 0,2 nm trong thời gian cuối của quá trình mô phỏng. Giá trị RMSD của protein dao động tăng dần từ 0,1 nm đến 0,4 nm cho thấy protein chưa ổn định trong quá trình mô phỏng, cần thời gian mô phỏng lâu hơn để xác định sự ổn định của protein. Giá trị RMSF cho thấy các nguyên tử của ligand tương đối ổn định, ít linh động, RMSF trong khoảng 0,025 - 0,14 nm.

Mô phỏng động học phức hợp IL-17A/ZINC08872811

ZINC08872811 là một trong số các chất gắn kết tốt tại vùng iii của IL-17A với điểm số docking -27,9693 và tương tác với 4 acid amin quan trọng là Arg46, Tyr85, His86, Asn88. Giá trị RMSD của ligand dao động trong khoảng 0,07-0,26 nm, ổn định trong khoảng 2 nm trong thời gian cuối của quá trình mô phỏng. Giá trị RMSD của protein dao động tăng dần từ 0,13 nm đến 0,34 nm trong khoảng 5 ns đầu, sau đó ổn định trong khoảng 0,25 nm ở thời gian cuối của quá trình mô phỏng. Giá trị RMSF các nguyên tử của ligand được minh họa trong cho thấy các nguyên tử của ligand tương đối ổn định, ít linh động, ngoại trừ nguyên tử O ở vị trí 9, RMSF khoảng 0,04-0,25 nm.

Mô phỏng động học phức hợp IL-17RA/ZINC67351070

ZINC67351070 là một trong số các chất gắn kết tốt tại vùng iii của thụ thể IL-17RA với điểm số docking -32,3735 và tương tác với 2 acid amin quan trọng là Asp262, Arg265. Giá trị RMSD của ligand ổn định, nhỏ hơn 0,2 nm. Giá trị RMSD của protein dao động tăng dần từ 0,15 nm đến 0,6 nm trong khoảng 2 ns đầu, sau đó giảm xuống trong khoảng 0,3 nm ở thời gian cuối của quá trình mô phỏng. Giá trị RMSF các nguyên tử của ligand khoảng 0,025-0,15 nm cho thấy các nguyên tử của ligand ổn định, ít linh động.

Kết luận

Tương tác IL-17A/IL-17RA là mục tiêu tác động tiềm năng cho việc thiết kế thuốc điều trị các bệnh viêm và tự miễn. Từ tương tác của các acid amin quan trọng trong cấu trúc tinh thể protein của IL-17A/IL-17RA (mã PDB: 4HSA), nghiên cứu đã xây dựng được 4 mô hình 3D-pharmacophore gồm 2 mô hình cho chất gắn kết IL-17A (P1 và P2), 2 mô hình cho chất gắn kết IL-17RA (P3 và P4). Tiếp theo, 4 mô hình mô tả phân tử docking cũng đã được xây dựng gồm mô hình D1, D2 cho chất

gắn kết IL-17A và mô hình D3, D4 cho chất gắn kết IL-17RA. Nghiên cứu này cũng đã tiến hành sàng lọc qua cơ sở dữ liệu từ các thư viện khác nhau với tổng cộng 22.951.220 chất. Sàng lọc các chất qua các mô hình 3D-pharmacophore, kết quả thu được 1.010 chất tiềm năng gắn kết IL-17A, 555 chất tiềm năng gắn kết IL-17RA. Tiếp tục sàng lọc các chất đã thỏa mãn mô hình 3D-pharmacophore qua các mô hình mô tả phân tử docking, kết quả thu được 1.003 chất dock thành công lên IL-17A, 547 chất dock thành công lên IL-17RA. Phân tích tương tác giữa các chất đã dock thành công với các acid amin quan trọng trong tương tác của IL-17A/IL-17RA, kết quả thu được 40 chất được đánh giá là những chất tiềm năng. Trong số các chất nói trên, 5 chất đã được mô phỏng động lực học phân tử gồm ZINC04343609, ZINC31494289, ZINC33809499, ZINC08872811, ZINC67351070, kết quả RMSD và RMSF cho thấy các ligand tương đối ổn định trong túi gắn kết. Giá trị RMSD và RMSF của các ligand như ZINC04343609, ZINC33809499, ZINC67351070 cho thấy ligand gắn kết tương đối ổn định trong túi gắn kết và các nguyên tử của ligand ổn định, ít linh động. Điều này cho thấy các chất này có tiềm năng lớn trong việc ức chế hoạt tính của Interleukin 17A.

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh trong đề tài mã số C2018-44-01 (Lê Minh Trí).

Tài liệu tham khảo

1. American Autoimmune Related Diseases Association (2018), *Autoimmune Disease Statistics*, truy cập ngày: 31/07/2020.
2. Moudgil K. et al. (2011), *J. Interferon Cytokine Res.*, 31, pp. 695-703.
3. Liu S. et al. (2013), *Nat. Commun.*, 4, pp. 1888.
4. BioSolveIT-GmbH. (2012), *FlexX. LeadIT 2.1*.
5. Chemical Computing Group Inc (2015), *MOE*.