

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 Nhân², 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]. Cytokin đóng vai trò then chốt trong sinh bệnh học của các bệnh tự miễn [2]. Interleukin-17A (IL-17A) là một cytokin 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 thế 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

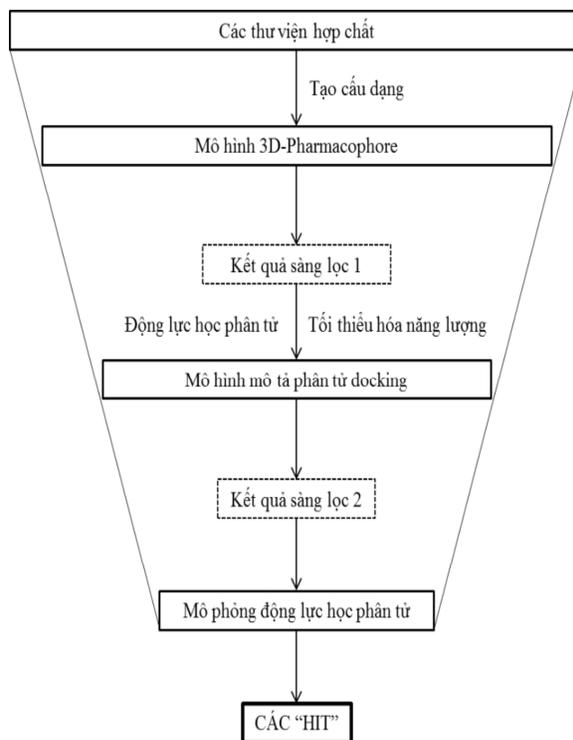
Ngày nhận: 20/8/2020

Ngày phân biệt: 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 PDP: 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

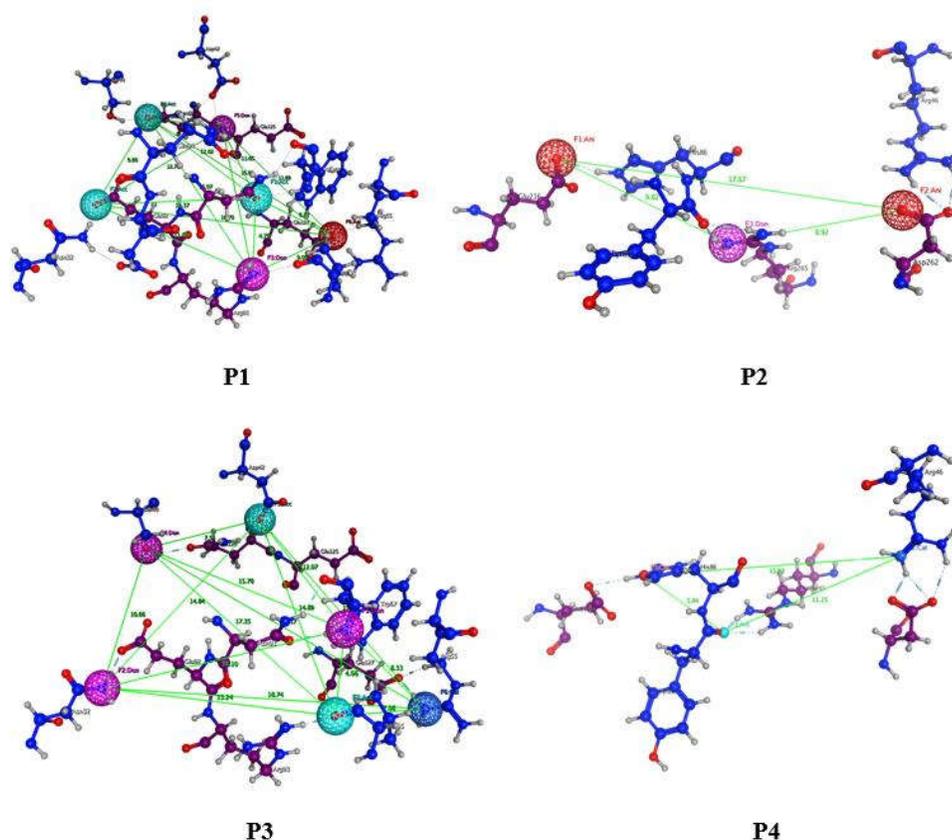
Nghiên cứu xây dựng được 4 mô hình 3D-pharmacophore bao gồm:

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:

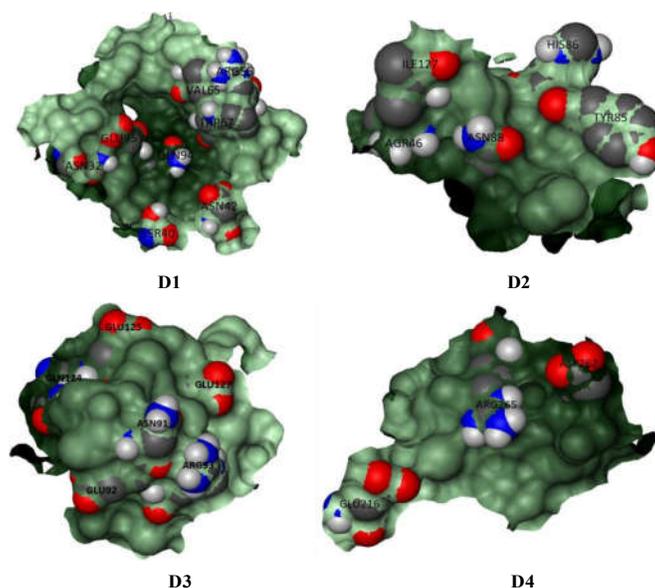
D1: Mô hình mô tả phân tử docking trên IL-17A tại vùng ii, các acid amin quan trọng để tạo khoang gắn kết là Asn32, Ser40, Asp42, Arg55, Val65, Trp67. Bán kính cần mở để bao phủ toàn bộ các acid amin này là 11,5 Å. Mô hình D1 có khoang gắn kết tương đối sâu, ngoài ra có 2 acid amin quan trọng khác ở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