

Sàng lọc *in silico* các phân tử nhỏ có tiềm năng gắn kết interleukin-1 β

Lê Minh Trí^{1,2}, Nguyễn Hoàng Minh¹, Vũ Thị Thanh Thảo¹
Trần Thị Diệu¹, Nguyễn Đắc Nhân¹, Trần Mỹ Ngọc¹
Đỗ Thành Tiến¹, Huỳnh Nguyễn Hoài Phương¹, Thái Khắc Minh^{1*}
¹Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
²Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Summary

IL-1 β is a cytokine belonging to a member of the IL-1 family. In conditions such as rheumatoid arthritis, gout or auto-inflammatory diseases are often associated with overexpression of IL-1 β . Therefore, inhibition of IL-1 β receptor is a potential therapy in the treatment of these conditions. In this study, the 3D-Pharmacophore is built with the database based on protein-protein interaction (PPI) between canakinumab monoclonal antibodies and IL-1 β using software such as MOE 2015.10 and ZINCPhamer. The crystal structure was used as the intercrystalline complex canakinumab and IL-1 β downloaded from the Protein Data Bank (PDB) code 5BVP. The virtual screening process used developed models on ZINC Purchasable (ZINC), Universal Product Database (UNDP), MayBridge HitCreator (MBHC), MayBridge Protein - Protein Interaction (MBPPI), ChemDiv Peptidomimetics (CDPM), ChemDiv PPI (CDPPI), DrugBank (DB). The substances will be subjected to ADME assessment, docking and result evaluation by LeadIT 2.1.8 of BioSolveIT and SwissADME software. This research recommended further screening on other databases, conducting molecular dynamics and free binding energy calculation, in vitro and in vivo testing of potential substances.

Keywords: Interleukin-1 β , receptor interleukin-1, pharmacophore, docking, molecular dynamics simulation.

Đặt vấn đề

IL-1 β là một cytokin thuộc thành viên họ IL-1. Trong các bệnh lý như viêm khớp dạng thấp, gout hay các bệnh tự viêm (autoinflammatory) thường đi kèm với sự biểu hiện quá mức của IL-1 β [1]. Do đó, việc ức chế sự biểu hiện quá mức của IL-1 β là một hướng nghiên cứu tiềm năng trong quá trình phát hiện thuốc để điều trị các bệnh lý nêu trên. Hiện nay, chỉ có 3 thuốc được chấp nhận điều trị IL-1 β là canakinumab, anakinra và rilonacept. Tuy nhiên, các thuốc này đều là những thuốc có kích thước phân tử lớn và phải dùng đường tiêm dưới da (SC) nên gây khó chịu cho người dùng và tốn chi phí [2]. Hiện nay, việc tìm kiếm và thiết kế các thuốc phân tử nhỏ ức chế IL-1 β nhờ sự hỗ trợ máy tính là cần thiết. Đề tài này được thực hiện dựa trên mục tiêu sàng lọc hơn 22 triệu chất từ 7 CSDL

khác nhau để tìm các phân tử nhỏ có tiềm năng ức chế IL-1 β .

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đề tài này được thực hiện bằng cách xây dựng mô hình 3D-Pharmacophore bằng phần mềm MOE.2015.10, sau đó sàng lọc pharmacophore với hơn 22 triệu chất từ 7 CSDL khác nhau: ZINC Purchasable (ZINC), Universal Product Database (UNDP), MayBridge HitCreator (MBHC), MayBridge Protein - Protein Interaction (MBPPI), Chemdiv Peptidomimetics (CDPM), Chemdiv PPI (CDPPI), DrugBank (DB) trên ZINCPhamer và MOE.2015.10, các phân tử sau khi sàng lọc được tiến hành docking bằng LeadIT 2.1.8 của BioSolveIT.

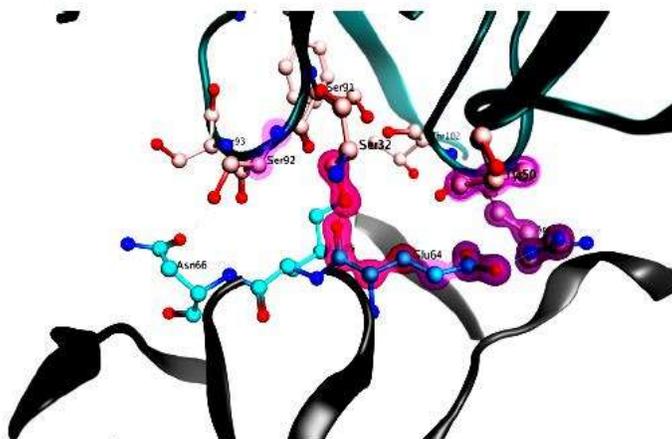
Xây dựng mô hình 3D-Pharmacophore

Mô hình 3D-Pharmacophore được xây dựng dựa trên tương tác protein - protein giữa canakinumab và IL-1 β , đặc biệt là các tương tác với acid amin Glu64, acid amin có nhiều tương tác với canakinumab nhất [3]. Tại nhánh bên của Glu64 (trong vòng β 5 - β 6) tương tác với 4 vùng quyết định bổ khuyết (CDR) của canakinumab:

Chịu trách nhiệm: Thái Khắc Minh
Email: thaikhakminh@ump.edu.vn
Ngày nhận: 19/4/2021
Ngày phản biện: 23/4/2021
Ngày duyệt bài: 20/5/2021

L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3 và H-CDR3 [4]. Để xây dựng được mô hình như trên thì cần sử dụng 2 công cụ trong phần mềm MOE 2015.10 là công cụ tương tác protein - protein (*Protein*

contact) và công cụ xây dựng pharmacophore (*Pharmacophore Editor*). Mô hình sẽ được tinh chỉnh nhờ công cụ ZINCPharmer (<http://zincpharmer.csb.pitt.edu>)



Hình 1. Bề mặt tương tác của IL-1 β tại vòng $\beta 5 - \beta 6$ của canakinumab (Canakinumab: Chuỗi xanh lục, $C\alpha$ hồng; IL-1 β : Chuỗi xám, $C\alpha$ xanh pastel)

Bảng 1. Những tinh chỉnh pharmacophore trên ZINCPharmer

Tên mô hình	Hình ảnh	Thao tác tinh chỉnh
Ph-IL1β $\beta 5 - \beta 6$ Mô hình cho chất gắn IL-1 β tại vị trí $\beta 5 - \beta 6$		Ràng buộc 4/6 thuộc tính (F1, F2, F3, F4).
Ph-IL1β-A Mô hình cho chất gắn IL-1 β tại vị trí A		Ràng buộc 4/8 thuộc tính (F3, F4, F5, F8)
Ph-IL1β-B Mô hình cho chất gắn IL-1 β tại vị trí B		Ràng buộc 3/8 thuộc tính (F2, F3, F4). Phải có ít nhất một thuộc tính F7 hoặc F8.

Đánh giá ADME

Các phân tử nhỏ sau khi sàng lọc qua mô hình Pharmacophore được đánh giá ADME thông qua công cụ trực tuyến SwissADME (<http://www.swissadme.ch>)^[5]. Kết quả được tải

về ở mục *Retrieve Data* → CSV và đưa vào Microsoft Excel để thực hiện sàng lọc bằng chức năng *Filter*. Các mô hình mà phần mềm sử dụng được trình bày trong bảng sau:

Bảng 2. Các mô hình và tiêu chí đánh giá ADME

Mô hình	Tiêu chí sàng lọc
PAINS	Số vi phạm (violation) = 0
Brenk	Số vi phạm = 0
Ghose (Amgen)	Số vi phạm = 0
Verber (GSK)	Số vi phạm = 0
Egen (Pharmacia)	Số vi phạm = 0
Muegge (Bayer)	Số vi phạm = 0
BOILED-Egg	Khả năng hấp thu đường uống cao (GI absorption: mục tiêu sàng lọc hơn 22 triệu chất từ 7 CSDLHigh)
Tương tác ức chế cytochrom P450	Không ức chế tất cả 5 cytochrom có trong mô hình (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4)

Docking phân tử

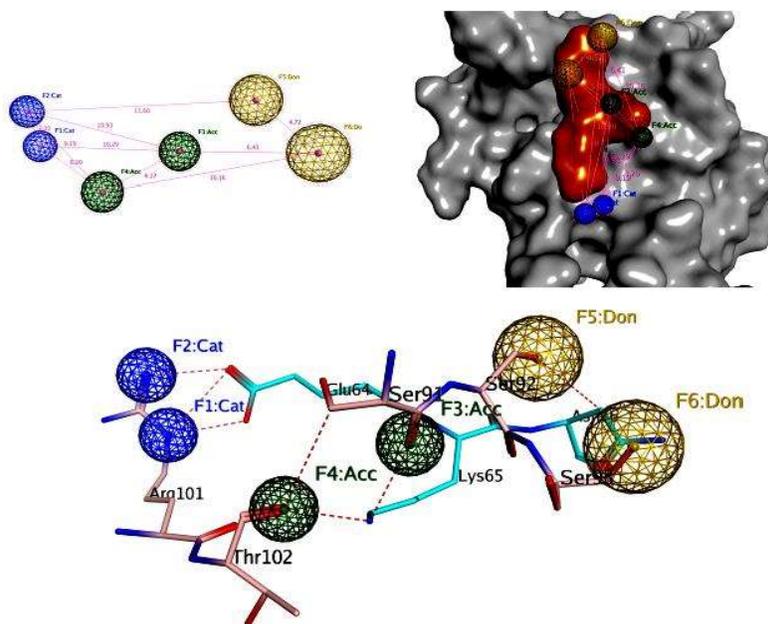
Phương pháp mô tả phân tử docking cần dữ liệu đầu vào là cấu trúc 3D của protein và phối tử. Đối với LeadIT 2.1.8^[6], cấu trúc phối tử sẽ được tạo cấu dạng và gắn vào khoang gắn kết của protein. Phần mềm sau đó sẽ tiến hành đánh giá kết quả thông qua điểm số docking và tương tác với acid amin của từng cấu dạng trong vị trí gắn kết. Mô hình docking phân tử được tiến hành gồm các bước: Chuẩn bị cấu trúc 3D protein → Chuẩn bị cấu trúc 3D phối tử → Xây dựng mô hình khoang gắn kết → Tiến hành docking và xuất kết quả. Kết quả docking được đánh giá dựa trên các điểm số gắn kết của các phối tử trên các đích tác động. Tuy nhiên, độ chính xác của các điểm số thường thay đổi rất nhiều khi đích tác động thay đổi^[7]. Do đó, nghiên cứu áp dụng phương pháp phân tích dấu vân tay tương tác protein-phối tử (Protein-ligand interaction fingerprint – PLIF) kết hợp với điểm số docking để phân tích kết quả giúp lực chọn các cấu dạng tiềm năng chính xác hơn.

Kết quả và bàn luận

Từ khoảng 22 triệu chất qua 7 mô hình *in silico*, nghiên cứu đã chọn ra 1 chất có tiềm năng gắn kết với IL-1 β tại vị trí vòng β 5 - β 6. Kết quả của từng mô hình được trình bày từng mục cụ thể.

Kết quả sàng lọc pharmacophore

Mô hình Ph-1IL1 β 5 - β 6 này được xây dựng dựa trên tương tác của canakinumab và IL-1 β ^[8]. Trong tổng số 7 CSDL, có 1 CSDL là ZINC Purchasable phải thực hiện sàng lọc pharmacophore riêng bằng công cụ ZINCPhamer^[9], 6 CSDL còn lại sẽ được sàng lọc bằng phần mềm MOE 2015.10^[10]. Kết quả sàng lọc từ ZINCPhamer và MOE 2015.10 sẽ được gộp lại dựa trên vị trí tác động của IL-1 β . Trên mô hình Ph-1IL1 β 5 - β 6 có 6 điểm, với 4 điểm bắt buộc là F1, F2, F3 và F4. Điểm F1 và F2 là 2 ion dương và cho tương tác trên acid amin Glu64, F3 và F4 là 2 vị trí nhận liên kết hydro và cho tương tác trên acid amin Lys65, F5 và F6 là cho hydro và cho tương tác trên acid amin Asn66.



Hình 2. Mô hình Ph-1L1 β - β 5_ β 6

Trái: Mô hình Pharmacophore Ph-1L1 β - β 5_ β 6; Phải: Giống hàng mô hình trên IL-1 β ;
Dưới: Giống hàng mô hình trên các acid amin tương tác (xanh: IL-1 β , hồng: canakinumab).

Tóm lại, kết quả sàng lọc pharmacophore trên IL-1 β thu được 2.235 chất được đánh giá ADME với 7 CSDL, trong đó sau khi cộng gộp ở 3 vị trí A, B và β 5 - β 6 trên IL-1 β sẽ có lần lượt 543, 1222 và 560 chất.

Bảng 2. Kết quả sàng lọc pharmacophore trên 7 CSDL

Cơ sở dữ liệu	IL-1 β		
	A	B	β 5 - β 6
6 CSDL: MBHC, MBPPI, CDPM, CDPPI, UNDP, DB	316	983	552
ZINC	227	239	8
Tổng	543	1222	560
		2235	

Kết quả đánh giá ADME

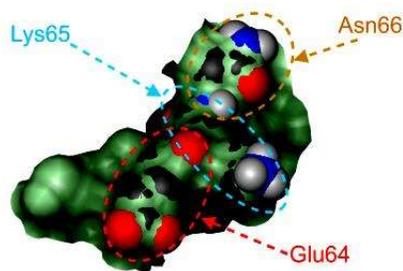
Kết quả sàng lọc pharmacophore từ 7 CSDL trong bảng 3 sẽ được dự đoán ADME dựa trên nhiều tiêu chí khác nhau. Các tiêu chí được dự đoán trên SwissADME như đã trình bày ở trên bao gồm PAINS, Ghose (Amgen), Veber (GSK), Egan (Pharmacia), Muegge (Bayer), Brenk, BOILED-Egg và không ức chế cytochrome P450. Các chất sau sàng lọc nếu thỏa mãn hết các tiêu chí trên thì có khả năng đạt những tiêu chuẩn cho các hợp chất dùng làm thuốc đường uống. Bảng 3 cho thấy số lượng hợp chất còn lại sau khi đã sàng lọc qua những tiêu chí trên.

Bảng 3. Kết quả sàng lọc ADME

Vị trí	IL-1 β		
	A	B	β 5 - β 6
Số chất sau khi sàng lọc pharmacophore	543	1222	560
Số chất thỏa các mô hình SwissADME	18	82	102
		202	

Các mô hình mô tả phân tử Docking

Nghiên cứu thực hiện docking trên tổng cộng 5 vị trí (A, B, β 5 - β 6), do kết quả docking của vị trí β 5 - β 6 được sử dụng để mô phỏng động lực học phân tử nên sẽ được trình bày trong phần này.



Hình 3. Vị trí docking trên β 5 - β 6

Hình 3 cho thấy hình ảnh vị trí docking β 5 - β 6 trên IL-1 β . Các acid amin quan trọng ở vị trí β 5 - β 6 là Glu64, Lys65 và Asn66 đều được làm rõ

trong hình vị trí gắn kết. Từ hình 3 có thể nhận thấy bề mặt tại vòng $\beta 5 - \beta 6$ có diện tích khá nhỏ và liền mạch (vì là 3 acid amin liền kề nhau), tạo điều kiện cho các phối tử dễ dàng gắn kết. Tuy vậy, bề mặt này lại khá phẳng, không tạo thành khoang hay hố sâu nên các phối tử có khả năng không thể duy trì được gắn kết lâu dài.

Từ kết quả sàng lọc SwissADME tại vị trí $\beta 5 - \beta 6$ thu được 5 chất có điểm số docking âm nhất là MHC09481(MBHC), SA08-1111 (CDPPI), T428-0731 (CDPPI), P634-0250 (CDPPI) và S978-0388 (CDPPI). Điểm số docking và các acid amin quan trọng có tương tác với các chất này được trình bày ở bảng 3.

Bảng 4. Điểm số docking và các acid amin quan trọng tương tác với 2 chất đại diện mô hình $\beta 5 - \beta 6$

STT	Tên hợp chất	Điểm số docking (kJ/mol)	Acid amin quan trọng của IL-1 β tương tác
1	MHC09461	-18,56	Glu64, Lys65, Asn66
2	SA08-1111	-18,55	Glu64, Lys65, Asn66, Pro87, Glu37, Gln38
3	T428-0731	-18,11	Glu64, Lys65, Asn66, Lys63
4	P634-0250	-17,72	Glu64, Lys65, Asn66, Met20, Gln39, Leu62
5	S978-0388	-17,43	Glu64, Lys65, Asn66

Kết luận

Từ 22 triệu chất của 7 cơ sở dữ liệu, đề tài đã tiến hành xây dựng và sàng lọc pharmacophore thu được 2.235 chất, sau đó đánh giá ADME còn 202 chất có thể dùng làm thuốc đường uống. Tiếp theo, tiến hành mô tả docking phân tử tại vị trí $\beta 5 - \beta 6$ xác định được 5 chất có tiềm năng trong nghiên cứu phát triển các thuốc phân tử nhỏ có thể ức chế IL-1 β là MHC09481(MBHC), SA08-1111 (CDPPI), T428-0731 (CDPPI), P634-0250 (CDPPI) và S978-0388 (CDPPI) với điểm số docking âm hơn -17 kJ/mol. Trong đó, MHC09461 là chất tiềm năng nhất với điểm số docking -18,56 kJ/mol và tương tác với các acid amin quan trọng là Glu64, Lys65, Asn66.

Đề tài kiến nghị tiếp tục sàng lọc *in silico* bằng phương pháp mô phỏng động lực học phân tử và tính toán năng lượng gắn kết tự do của phức hợp nhằm đánh giá sâu hơn về khả năng gắn kết cũng như độ ổn định của các chất ức chế tiềm năng trong phức hợp. Các hợp chất tiềm năng nhất sẽ được tiến hành thử nghiệm *in vitro*, *in vivo*. Hiện nay, thư viện protein có thêm cấu trúc đồng kết tinh giữa gevikizumab và IL-1 β , mặc dù chưa hoàn tất thử nghiệm lâm sàng, nhưng tương tác của gevikizumab trên IL-1 β cũng là một hướng nghiên cứu đầy hứa hẹn trong tương lai.

Tài liệu tham khảo

1. Kaneko N. et al. (2019), "The role of interleukin-1 in general pathology", *Inflammation and Regeneration*, 39 (1), pp. 12.
2. Nigrovic P. A. et al., "Interleukin-1 inhibitors: Biology, principles of use, and adverse events".

3. Rondeau J. M., Ramage P., Zurini M., Gram H. (2015), "The molecular mode of action and species specificity of canakinumab, a human monoclonal antibody neutralizing IL-1 β ", *mAbs*, 7 (6), pp. 1151-1160.
4. Rondeau J. M. et al. (2015), "The molecular mode of action and species specificity of canakinumab, a human monoclonal antibody neutralizing IL-1 β ", *mAbs*, 7 (6), pp. 1151-1160.
5. Daina A. et al. (2017), "SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules", *Scientific Reports*, 7 (1), pp. 42717.
6. Amin A. et al. (2020), "Studies on effects of Umbelliferon derivatives against periodontal bacteria: Antibiofilm, inhibition of quorum sensing and molecular docking analysis", *Microbial Pathogenesis*, pp. 104184.
7. Jasper J. B. et al. (2018), "A novel interaction fingerprint derived from per atom score contributions: Exhaustive evaluation of interaction fingerprint performance in docking based virtual screening", *Journal of Cheminformatics*, 10 (1), pp. 15.
8. Rondeau J. M. et al. (2015), "The molecular mode of action and species specificity of canakinumab, a human monoclonal antibody neutralizing IL-1 β ", *mAbs*, 7 (6), pp. 1151-1160.
9. Koes D. R. et al. (2012), "ZINCPharmer: Pharmacophore search of the ZINC database", *Nucleic Acids Research*, 40 (W1), pp. W409-W414.
10. Inc. C. C. G. (2016), "Molecular operating environment (MOE)", Chemical Computing Group Inc 1010 Sherbooke St. West, Suite# 910, Montreal...