

# Sàng lọc ảo các hợp chất tự nhiên tiềm năng ức chế protease chính của SARS-CoV-2 từ bài thuốc xông được liệu cổ truyền bằng phương pháp gắn kết phân tử

Đoàn Quốc Hoài Nam, Lê Thị Thùy Trang  
Luu Lệ Khanh, Nguyễn Đặng Kim Quyên  
Trương Thị Xuân Liên, Nguyễn Thị Hồng Hương\*  
*Khoa Dược, Trường Đại học Văn Lang*

## Summary

*Main protease, also known as 3-chymotrypsin-like protease, is required to process polyproteins into mature nonstructural proteins that are essential for transcription and replication of SARS-CoV-2. Our study performed virtual screening for potential compounds, from nine herbal medicine using in traditional herbal steam therapy, that could inhibit the main protease of SARS-CoV-2, using molecular docking method. The results suggested that several compounds could reversibly bind with the active site of this protease and could inhibit both the wild type and the C145A mutation, thereby serving the basis for the discovery of new active compounds that could be applied to the treatment of COVID-19.*

**Keywords:** SARS-CoV-2, main protease, traditional medicine, herbal steam bath, virtual screening, molecular docking.

## Đặt vấn đề

Đại dịch COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) do tác nhân virus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) và các biến thể bùng phát đang gây ra những hậu quả nghiêm trọng đến sức khỏe con người và nền kinh tế - xã hội trên toàn thế giới trong giai đoạn những năm từ 2019 đến 2021 và được dự đoán sẽ còn kéo dài hơn nữa <sup>[1]</sup>. Hiện nay, ngoài biện pháp phòng ngừa bằng vaccin, sự lựa chọn các thuốc điều trị cho COVID-19 áp dụng trong lâm sàng vẫn còn hạn chế, do đó việc nghiên cứu các hoạt chất có khả năng kháng virus SARS-CoV-2 trở nên cấp thiết. Trong số các mục tiêu tác động tiềm năng, protease chính

(Mpro), một protease kiểu 3-chymotrypsin (3CLpro), đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành các protein không cấu trúc trưởng thành, vốn là tối cần thiết cho sự phiên mã và nhân lên của virus trong các tế bào đích. Tính đặc hiệu cơ chất của Mpro được bảo tồn cao giữa các chủng *Coronavirus* khác nhau khiến cho mục tiêu này trở nên lý tưởng cho việc phát triển các thuốc kháng virus phổ rộng <sup>[2]</sup>. Dựa trên công văn 1306/BYT-YDCT về hướng dẫn sử dụng các bài thuốc trong phòng và hỗ trợ điều trị COVID-19 do Bộ Y tế ban hành (17/03/2020) <sup>[3]</sup>, bài thuốc kết hợp xông hơi và uống nước sắc được sử dụng trong nghiên cứu này. Trong nội dung bài báo, phương pháp sàng lọc ảo được thực hiện đối với các hợp chất tự nhiên của một số dược liệu theo bài thuốc trên nhằm đánh giá cho tiềm năng ức chế Mpro, ngăn chặn sự phát triển của SARS-CoV-2, qua đó góp phần vào việc phát triển các hoạt chất có khả năng ứng dụng trong phòng ngừa và điều trị COVID-19.

---

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Hồng Hương  
Email: huong.nth@vlu.edu.vn  
Ngày nhận: 13/9/2021  
Ngày phản biện: 23/9/2021  
Ngày duyệt bài: 24/12/2021

## **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

### **Đối tượng nghiên cứu**

Bài thuốc hướng dẫn có thành phần dược liệu như sau: Kinh giới (*Herba Elsholtziae ciliatae*), lá lốt (*Herba Piperis lolot*), bạc hà (*Herba Menthae*), trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae*), bạch chỉ (*Radix Angelicae dahuricae*), kim ngân (*Flos Lonicerae japonicae*), tràm (*Folium Melaleucaae*), bưởi (*Folium et Exocarpium Citri grandis*) và gừng (*Folium et Rhizoma Zingiberis*)<sup>[3]</sup>.

Các protein đích của SARS-CoV-2 gồm Mpro dạng tự nhiên (WT) và dạng đột biến phổ biến C145A.

Sàng lọc ảo các hợp chất tự nhiên từ các dược liệu bằng phương pháp gắn kết phân tử đối với đích tác động Mpro WT và Mpro C145A của SARS-CoV-2.

### **Phương pháp nghiên cứu**

#### **Chuẩn bị cấu trúc các hợp chất tự nhiên và cấu trúc của các dạng Mpro**

Dựa trên phương pháp chế biến và sử dụng các dược liệu theo công văn 1306/BYT-YDCT, gồm phương pháp xông hít và sắc uống, các hợp chất tự nhiên (ligand) được lựa chọn dựa trên khả năng bay hơi, lôi cuốn được theo hơi nước để xông hoặc hòa tan được trong nước để uống. Cấu trúc của các hợp chất này được tải về từ PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) hoặc Scifinder (<https://scifinder-n.cas.org/>).

Cấu trúc của Mpro WT (7COM)<sup>[4]</sup> và Mpro C145A (7JOY)<sup>[5]</sup> được tải từ Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

Các cấu trúc của ligand và protein sau đó được nhập vào MOE 2015 để tính toán điện tích từng phần theo phương pháp Gasteiger-Huckel, proton hóa dưới điều kiện pH 7,4 và tối thiểu hóa năng lượng dưới trường lực AMBER99<sup>[6]</sup>.

#### **Phương pháp gắn kết phân tử**

Khoang hoạt động của Mpro chứa bộ đôi xúc tác H41 và C145 cho quá trình phân cắt liên kết peptid. Các chất ức chế Mpro hiện nay được báo cáo gồm cả loại không gắn kết hoặc có gắn kết cộng hóa trị (CHT) với C145 thông qua phản ứng của nhóm sulfhydryl (-SH) với aldehyd -

cton hoặc enon liên hợp<sup>[4]</sup>. Do đó, các hợp chất tự nhiên được sàng lọc với kiểu gắn kết không CHT với Mpro WT và Mpro C145A, đồng thời được sàng lọc với kiểu gắn kết CHT với C145 của Mpro WT. Theo đó, thuật toán 'Triangle Matching' được sử dụng để xây dựng các cấu dạng và xếp hạng bằng năng lượng gắn kết London dG, sau đó 100 cấu dạng đầu tiên được đánh giá lại (refinement) bằng thuật toán 'Induce Fit' với mức chênh lệch năng lượng tối thiểu là 0,001 kcal.mol<sup>-1</sup> hoặc tối đa 1000 bước tối thiểu hóa năng lượng và xếp hạng bằng năng lượng gắn kết GBVI/WSA dG. Cấu dạng với năng lượng gắn kết (BE) thấp nhất sau khi đánh giá lại của từng hợp chất, với giá trị không quá -7 kcal.mol<sup>-1</sup> được sử dụng để phân tích.

### **Kết quả và bàn luận**

#### **Các hợp chất tự nhiên**

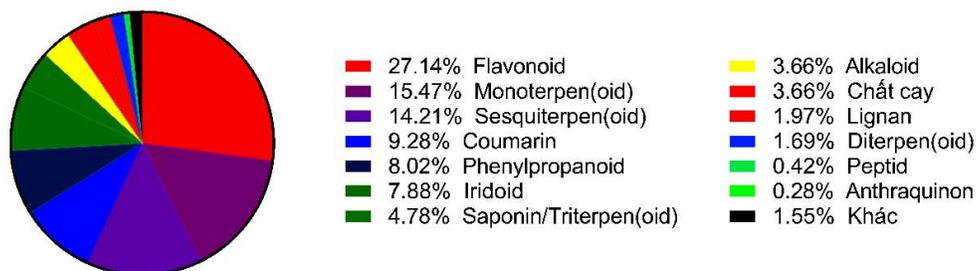
Từ chín dược liệu đã lựa chọn, tổng cộng 711 hợp chất tự nhiên được xác định, gồm 586 cấu trúc từ PubChem và 125 cấu trúc từ SciFinder, với sự phân bố các nhóm hóa học được trình bày trong hình 1. Trong số các hợp chất này, có 17 aldehyd, 120 ceton và 343 enon liên hợp có thể tham gia phản ứng với nhóm sulfhydryl của C145.

#### **Gắn kết phân tử**

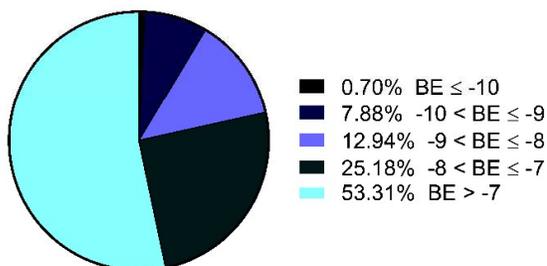
Kết quả tái gắn kết CHT của boceprevir, đồng kết tinh trong phức hợp với Mpro WT (7COM) cho thấy thông số và phương pháp sử dụng có khả năng tái tạo dữ liệu thực nghiệm và phù hợp để sử dụng cho nghiên cứu (BE -8,35 kcal.mol<sup>-1</sup>; RMSD 1,28 Å).

Sự phân bố BE trong mỗi trường hợp khảo sát gắn kết phân tử được trình bày trong hình 1B. Nhìn chung các hợp chất khảo sát có khả năng gắn kết không CHT với Mpro WT tốt hơn trong trường hợp CHT. Bảng 1 chỉ ra 7 hợp chất có khả năng gắn kết CHT tốt nhất (BE < -7 kcal.mol<sup>-1</sup>), tất cả đều theo phản ứng Michael vào enon liên hợp. Tuy nhiên, khi so sánh với kiểu gắn không CHT của cùng các chất này, có thể thấy kiểu gắn kết ưu tiên nhất của 7 hợp chất này nói riêng và toàn bộ các chất khảo sát nói chung đối với Mpro là dạng gắn kết không CHT.

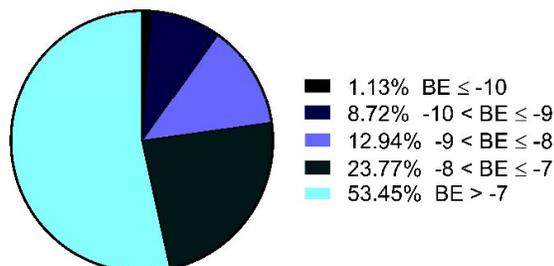
**A** Phân loại các nhóm hóa học trong bộ dữ liệu các hợp chất tự nhiên khảo sát



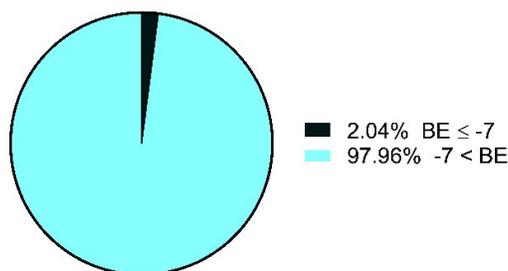
**B** Gắn kết không CHT vào Mpro WT



Gắn kết không CHT vào Mpro C145A



Gắn kết CHT vào Mpro WT

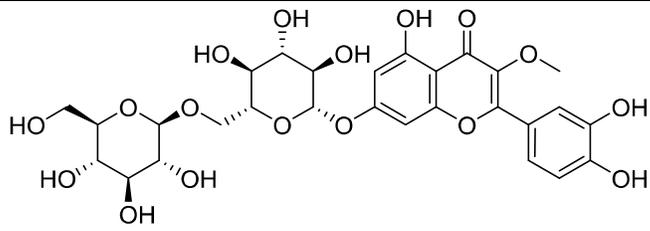
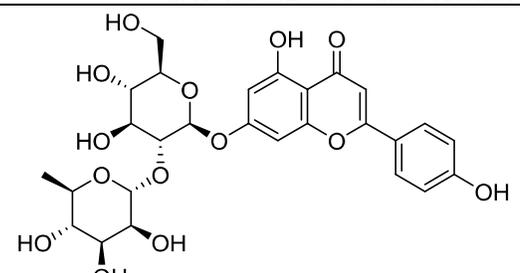
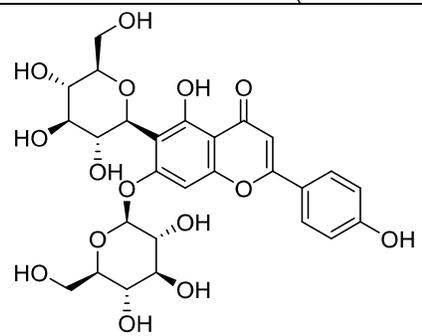
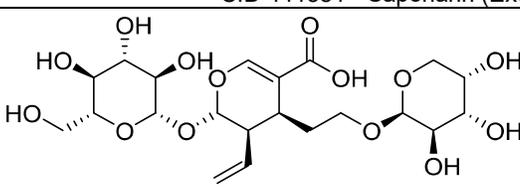
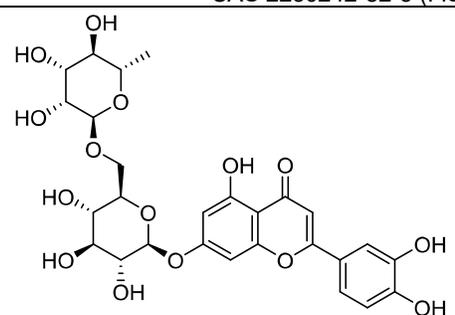


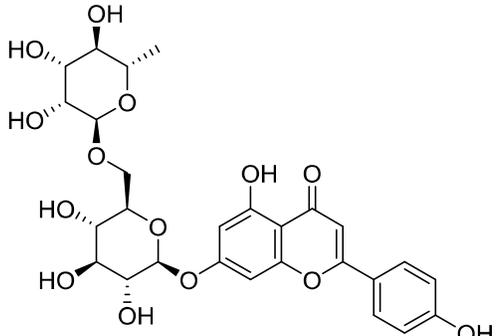
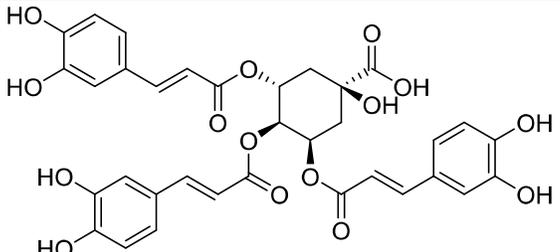
**Hình 1.** (A) Phân loại các nhóm hóa học trong bộ dữ liệu các hợp chất tự nhiên khảo sát; (B) Sự phân bố BE ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) của các hợp chất khi gắn kết CHT theo phản ứng Michael và enon liên hợp, hoặc không CHT với Mpro WT và Mpro C145A.

Để lựa chọn các hợp chất tiềm năng nhất ức chế cả Mpro WT và Mpro C145A, các cấu dạng của từng chất thu được trong hai trường hợp được xếp chồng lên nhau. Các chất có sự thay đổi cấu dạng trong hai trường hợp không quá lớn với RMSD không quá 3.0 Å được giữ lại với lý do khả năng gắn kết của các hợp chất này ít bị thay đổi khi cấu dạng của Mpro thay đổi do đột biến. Có trong số 331 hợp chất với  $\text{BE} < -7 \text{ kcal.mol}^{-1}$  thỏa mãn tiêu chí này. Tiếp đến, tương tác với các amino acid trong khoảng gắn

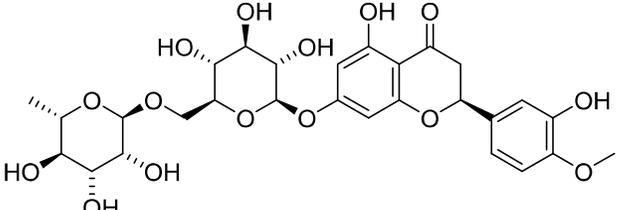
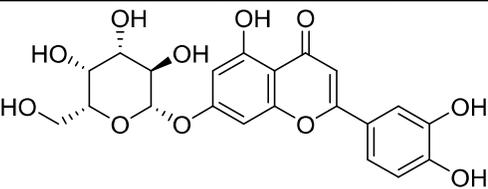
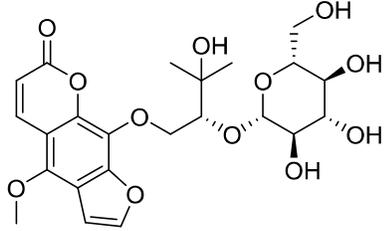
kết của 61 hợp chất này được xem xét bằng công cụ 'Protein-Ligand Interaction Fingerprint' trong MOE 2015 để lựa chọn tiếp các hợp chất thỏa mãn hai tiêu chí: (1) - Tương tác với 1 trong 2 bộ đôi amino acid xúc tác H41 và C145; (2) - Tương tác được với tối thiểu 2 amino acid trong khoảng gắn kết. Theo đó, 21 hợp chất tiềm năng nhất chất được lựa chọn. Thông tin tóm tắt về khả năng gắn kết của 21 hợp chất tiềm năng nhất này được trình bày trong bảng 2.

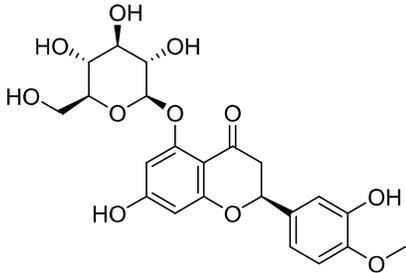
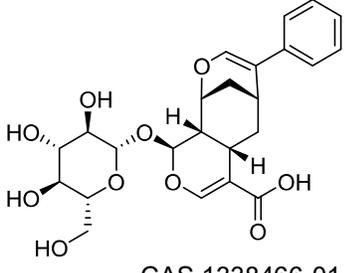
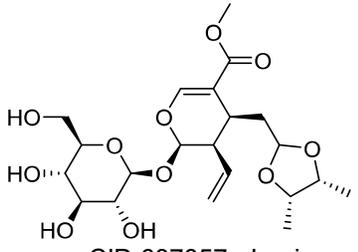
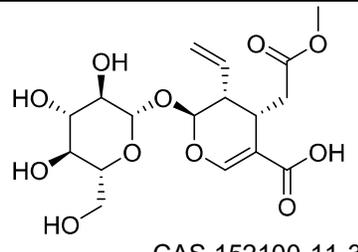
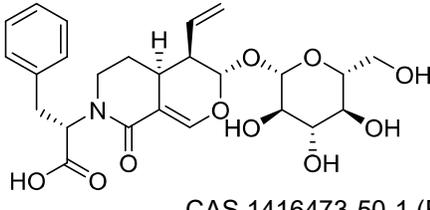
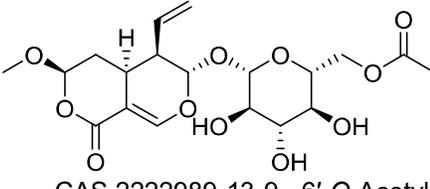
**Bảng 1.** So sánh kiểu gắn kết không CHT với gắn kết CHT theo phản ứng Michael vào enon liên hợp, của các hợp chất có BE CHT < -7 kcal.mol<sup>-1</sup> trên Mpro WT.

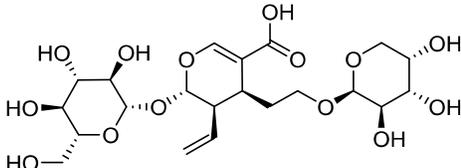
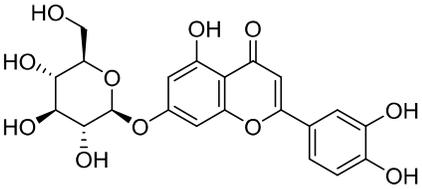
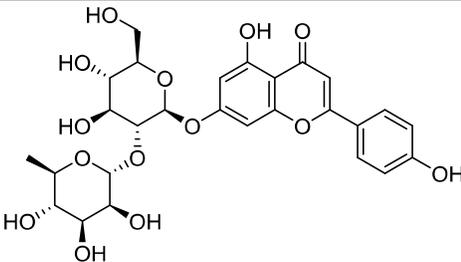
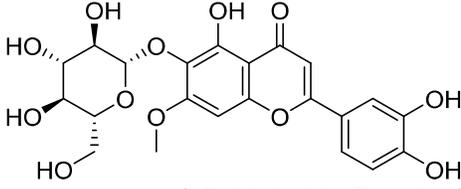
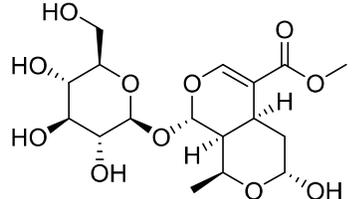
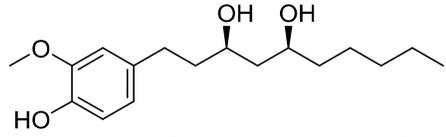
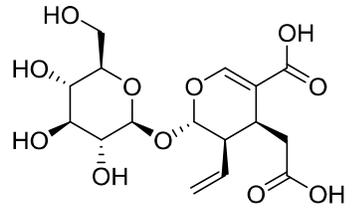
| Hợp chất  | BE (kcal.mol <sup>-1</sup> ) |        |
|---|------------------------------|--------|
|   | Không CHT                    | Có CHT |
|  <p>CAS 188682-83-9 - Madreselin A (Flos <i>Lonicerae japonicae</i>)</p>                           | -10,14                       | -7,55  |
|  <p>CID 5282150 - Rhoifolin (Flos <i>Lonicerae japonicae</i>, Exocarpium <i>Citri grandis</i>)</p> | -9,38                        | -7,19  |
|  <p>CID 441381 - Saponarin (Exocarpium <i>Citri grandis</i>)</p>                                  | -9,10                        | -7,26  |
|  <p>CAS 2230242-82-5 (Flos <i>Lonicerae japonicae</i>)</p>                                       | -8,81                        | -7,80  |
|  <p>CID 44258082 - Luteolin-7-O-rutinosid (Herba <i>Elsholtziae ciliatae</i>)</p>                | -8,64                        | -7,09  |

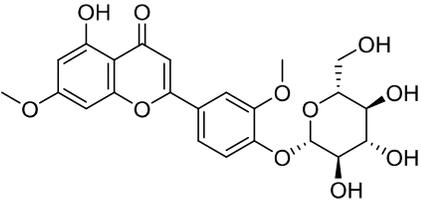
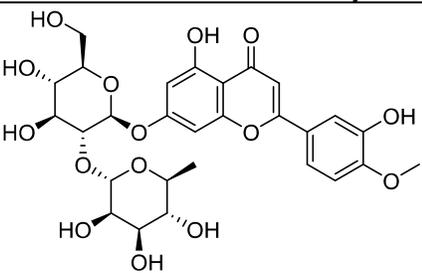
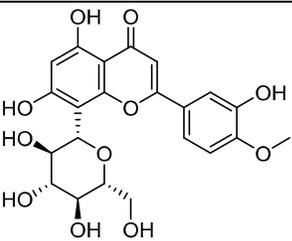
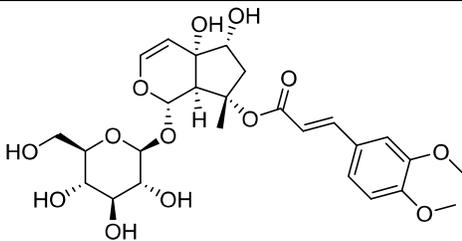
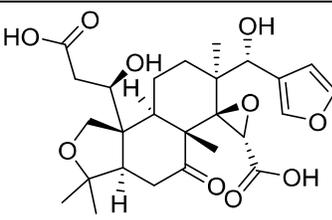
|   |       |       |
|---|-------|-------|
|  | -8,82 | -7,12 |
| CID 9851181 - Isorhoifolin (Herba <i>Menthae</i> )                                |       |       |
|  | -9,27 | -7,37 |
| CID 6440783 - Acid 3,4,5-tricaffeoylquinic (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )     |       |       |

**Bảng 2.** Thông tin về khả năng gắn kết với Mpro WT và Mpro C145A của 21 hợp chất tiềm năng nhất

| Hợp chất   | BE (kcal.mol <sup>-1</sup> ) |       | RMSD (Å) | Amino acid**                |
|--|------------------------------|-------|----------|-----------------------------|
|  | WT                           | C145A |          |                             |
|               | -9,52                        | -9,76 | 1,40     | H41<br>G143<br>H163<br>Q192 |
| CID 10621 - Hesperidin (Pericarpium <i>Citri reticulatae</i> , Exocarpium <i>Citri grandis</i> ) |                              |       |          |                             |
|               | -7,97                        | -7,90 | 2,87     | H41<br>H163                 |
| CAS 54985-16-9 - Luteolin-7-O-galactosid (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )                      |                              |       |          |                             |
|               | -8,53                        | -8,53 | 2,56     | H41<br>G143<br>H163         |
| CAS 88510-06-9 (Radix <i>Angelicae dahuricae</i> )   |                              |       |          |                             |

|   |       |       |      |                         |
|---|-------|-------|------|-------------------------|
|    | -8,03 | -8,48 | 1,52 | H41<br>Q192             |
| CID 129663 - Hesperetin-5-O-glucosid ( <i>Pericarpium Citri reticulatae</i> )       |       |       |      |                         |
|    | -8,00 | -7,86 | 2,39 | H41<br>N142             |
| CAS 1338466-01-5 ( <i>Flos Lonicerae japonicae</i> )                                |       |       |      |                         |
|   | -8,17 | -8,38 | 2,29 | H41<br>E166             |
| CID 637857 - Loniceracetalid ( <i>Flos Lonicerae japonicae</i> )                    |       |       |      |                         |
|  | -7,74 | -7,55 | 2,63 | H41<br>S144<br>C/A145*  |
| CAS 152100-11-3 ( <i>Flos Lonicerae japonicae</i> )                                 |       |       |      |                         |
|  | -8,47 | -8,36 | 1,31 | H41<br>G143             |
| CAS 1416473-50-1 ( <i>Flos Lonicerae japonicae</i> )                                |       |       |      |                         |
|  | -8,53 | -8,30 | 2,94 | N142<br>S144<br>C/A145* |
| CAS 2222989-13-9 - 6'-O-Acetylvogelosid ( <i>Flos Lonicerae japonicae</i> )         |       |       |      |                         |

|   |       |       |      |  |
|---|-------|-------|------|--|
|                | -8,81 | -9,04 | 1,90 | H41<br>G143<br>H163<br>E166                    |
| CAS 2230242-82-5 (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )   |       |       |      |  |
|                | -8,05 | -8,21 | 1,84 | H41<br>H163                                    |
| CID 5280637 - Cynarosid (Herba <i>Elisholtziae ciliatae</i> , Flos <i>Lonicerae japonicae</i> ) |       |       |      |  |
|                | -9,38 | -9,29 | 2,32 | H41<br>N142<br>G143<br>S144<br>C/A145*<br>H163 |
| CID 5282150 - Rhoifolin (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> , Exocarpium <i>Citri grandis</i> )    |       |       |      |  |
|               | -8,23 | -8,06 | 2,34 | H41<br>Q192                                    |
| CID 5320439 - Pedaliin (Herba <i>Elisholtziae ciliatae</i> )                                    |       |       |      |  |
|              | -7,76 | -7,70 | 1,32 | H41<br>H163<br>E166                            |
| CID 11228693 - Morronisid (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )                                    |       |       |      |  |
|              | -7,16 | -7,23 | 2,70 | G143<br>C/A145*                                |
| CID 11369949 - [6]-Gingerdiol (Rhizoma <i>Zingiberis</i> )                                      |       |       |      |  |
|              | -7,52 | -7,71 | 2,04 | S144<br>C/A145*                                |
| CID 14136854 - Secologanosid (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )                                 |       |       |      |  |

|   |       |       |      |   |
|---|-------|-------|------|---|
|    | -8,12 | -8,79 | 2,39 | H41<br>S144                                     |
| CID 14376376 - Flavoyadorinin B (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )                  |       |       |      |   |
|    | -9,20 | -9,24 | 1,82 | H41<br>L141<br>G143<br>S144<br>H163             |
| CID 69964214 - Neodiosmin (Exocarpium <i>Citri grandis</i> )                        |       |       |      |   |
|    | -8,42 | -8,01 | 1,76 | L141<br>G143<br>S144<br>C/A145*<br>H163<br>E166 |
| CID 101387091 - Diosmentin-8-C-glucosid (Pericarpium <i>Citri reticulatae</i> )     |       |       |      |   |
|  | -8,96 | -8,71 | 2,43 | H41<br>H163<br>E166                             |
| CID 101618854 - Macranthosid (Flos <i>Lonicerae japonicae</i> )                     |       |       |      |   |
|  | -7,99 | -7,57 | 2,26 | N142<br>G143<br>S144<br>C/A145*<br>H163         |
| CID 131752314 - Acid isolimonin (Pericarpium <i>Citri reticulatae</i> )             |       |       |      |   |

\*C145 của Mpro WT hoặc A145 của Mpro C145A

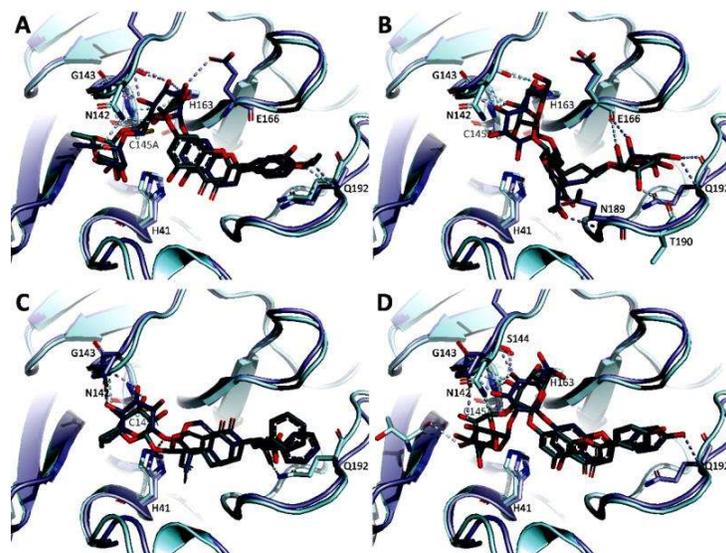
\*\*Các amino acid hình thành liên kết hydro hoặc tương tác phân cực như  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ -p,  $\pi$ -proton... cùng xuất hiện trong cả hai trường hợp

Thông qua phương pháp gắn kết phân tử, từ 711 hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ 9 loại dược liệu được sử dụng trong bài thuốc xông cổ truyền, nghiên cứu sàng lọc được 21 hợp chất tiềm năng ức chế Mpro dạng tự nhiên và dạng

đột biến C145A, với khả năng tương tác trực tiếp với bộ đôi xúc tác H41 và/hoặc C145 (hoặc A145). Trong số đó, có 13 hợp chất có chứa trong kim ngân (Flos *Lonicerae japonicae*), 4 hợp chất có chứa trong trần bì (Pericarpium *Citri*

*reticulatae*), 3 hợp chất có chứa trong bưởi (Folium et Exocarpium *Citri grandis*), 2 hợp chất có chứa trong kinh giới (Herba *Elsholtzia ciliatae*), 1 hợp chất có chứa trong gừng (Folium et Rhizoma *Zingiberis*) và 1 hợp chất có chứa

trong bạch chỉ (*Radix Angelicae dahuricae*), qua đó cho thấy tiềm năng của các dược liệu trong việc ứng dụng để phòng ngừa và điều trị COVID-19.



**Hình 2.** Minh họa khả năng gắn kết của một số hợp chất tự nhiên trong khoang hoạt động của Mpro WT (ligand màu tím đậm, protein màu tím nhạt) và Mpro C145A (ligand màu xanh lục đậm, protein màu xanh lục nhạt). (A) CID 10621; (B) CAS 2230242-82-5; (C) CAS 1416473-50-1; và (D) CID 5282150.

### Kết luận

Từ 9 dược liệu được sử dụng trong bài thuốc xông cổ truyền, nghiên cứu đã sàng lọc được 21 hợp chất tự nhiên, phần lớn là các hợp chất glycosid có cấu trúc flavonoid và iridoid, có khả năng ức chế Mpro dạng tự nhiên và dạng đột biến C145A. Kết quả nghiên cứu cho thấy các hoạt chất từ thảo dược của Việt Nam có tiềm năng ức chế SARS-CoV 2 và cũng là cơ sở để tiếp tục phát triển nghiên cứu trên các protein đích khác của virus.

### Tài liệu tham khảo

1. Ganesh B. et al. (2021), "Epidemiology and pathobiology of SARS-CoV-2 (COVID-19) in comparison with SARS, MERS: An updated overview of current knowledge and future perspectives", *Clin. Epidemiol. Glob. Health.*, 10, pp. 100694. <http://doi.org/10.1016/j.cegh.2020.100694>.
2. Pillaiyar T. et al. (2016), "An overview of severe acute respiratory syndrome - coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: Peptidomimetics and small molecule

chemotherapy", *J. Med. Chem.*, 59 (14), pp. 6595 - 6628. <http://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01461>

3. Công văn 1306/BYT-YDCT (17/03/2020), *Hướng dẫn sử dụng thuốc cổ truyền, phương pháp y học cổ truyền trong phòng và hỗ trợ điều trị viêm đường hô hấp cấp do SARS-CoV-2*, Bộ Y tế, Việt Nam.

4. Qiao J. et al. (2021), "SARS-CoV-2 Mpro inhibitors with antiviral activity in a transgenic mouse model", *Science*, 371 (6536), pp. 1374-1378. <http://doi.org/10.1126/science.abf1611>.

5. Lee J. et al. (2020), "Crystallographic structure of wild-type SARS-CoV-2 main protease acyl - enzyme intermediate with physiological C-terminal autoprocessing site", *Nat. Commun.*, 11 (1), pp. 5877. <http://doi.org/10.1038/s41467-020-19662-4>.

6. Gasteiger J. , Marsili M. (1980), "Iterative partial equalization of orbital electronegativity - a rapid access to atomic charges", *Tetrahedron.*, 36 (22), pp. 3219-3228. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(80\)80168-2](https://doi.org/10.1016/0040-4020(80)80168-2).