

SÀNG LỌC CÁC PHÂN TỬ NHỎ CÓ KHẢ NĂNG GẮN KẾT TRÊN INTERLEUKIN-5

Võ Duy Nhân²⁷

Tóm tắt: *Interleukin 5 (IL-5) là đích tác động tiềm năng cho việc thiết kế thuốc điều trị các bệnh dị ứng, liên quan đến eosinophil. Muốn có hoạt tính sinh học, IL-5 trước hết cần phải gắn lên thụ thể. Hiện nay, vẫn chưa có thuốc phân tử nhỏ ức chế tương tác IL-5 và IL-5 receptor (IL-5R) được chấp thuận. Với mục tiêu ức chế tương tác IL-5 và IL-5R, nghiên cứu này được thực hiện để tìm kiếm các chất phân tử nhỏ có khả năng gắn kết lên IL-5 hoặc thụ thể của IL-5. Đối tượng của nghiên cứu bao gồm cấu trúc 3D của IL-5, cấu trúc 3D của thụ thể IL-5 và tương tác protein-protein của IL-5 và thụ thể IL-5, với PDB ID là 3VA2 có độ phân giải 2,703 Å tại ngân hàng dữ liệu protein. Phương pháp thiết kế thuốc dựa trên cấu trúc mục tiêu được lựa chọn trong nghiên cứu. Cơ sở dữ liệu dùng để sàng lọc gồm thư viện Drug bank, Maybridge, Chemdiv, các hợp chất phân lập từ các bài thuốc cổ truyền Trung Hoa, ZINC12. Quá trình sàng lọc lần lượt qua mô hình 3D-pharmacophore, mô hình mô tả phân tử docking và mô phỏng động học phân tử. Nghiên cứu này đã sàng lọc ra các chất tiềm năng có khả năng ức chế tương tác giữa hai protein này, qua đó ức chế hoạt tính IL-5. Sau khi sàng lọc cơ sở dữ liệu với 22.871.081 cấu trúc qua các mô hình in silico thì 513 chất thỏa mô hình 3D-pharmacophore, 465 chất thỏa mô hình mô tả phân tử docking. Tiến hành mô phỏng động học phân tử cho 2 chất tiềm năng từ kết quả sàng lọc gồm ZINC33932757, ZINC43527334. Các giá trị RMSD, RMSF thu được từ quá trình này đều khả quan, cho thấy khả năng gắn kết tốt và ổn định vào khoang gắn kết của các chất tiềm năng.*

Từ khóa: *docking, interleukin-5, interleukin-5 receptor, molecular dynamics simulation, pharmacophore.*

Summary: *Interleukin 5 (IL-5) is a potential allergic drug target, involving eosinophil. In order to be biologically active, IL-5 must first attach to IL-5 receptor. Currently, no small molecule drug that inhibits IL-5 / IL-5R interaction has been approved. With the aim to intervene the IL-5/IL-5R interactions, this study was conducted to figure out small molecules that binding to IL-5 or IL-5 receptor. The 3D structure of IL-5, the 3D structure of the IL-5 receptor and the protein-protein interaction of IL-5 and the IL-5 receptor are involved with a PDB ID of 3VA2 with resolution 2,703 Å at Protein Data Bank with Structure-based design approaches. Molecular databases namely Drug bank, Maybridge, Chemdiv, Traditional Chinese Medicine, ZINC12 libraries are used for virtual screening. 3D-pharmacophore models, docking models and molecular dynamics simulation are performed on virtual screening process. A database of approximately 22 million compounds was screened using in silico model*

²⁷ Thạc sĩ -Khoa Dược, trường Đại học Nam Cần Thơ, email:vdnhan@nct.edu.vn

(513 compounds were satisfied with the 3D-pharmacophore models and 465 compounds were satisfied with the docking models). By analyzing the interactive capability of successfully docked compounds with important amino acids, 2 potential ligands were selected for further analysis via molecular dynamics simulation were ZINC33932757, ZINC43527334. The RMSD, RMSF values are showed good and stable binding ability. This study screened out potential substances that could inhibit interactions between IL-5 and IL-5 receptor and resulted in inhibiting IL-5 activity.

Key words: docking, interleukin-5, interleukin-5 receptor, molecular dynamics simulation, pharmacophore.

Đặt vấn đề

Hen phế quản được xem là căn bệnh có tần suất mắc bệnh cao trên thế giới. Interleukin-5 (IL-5) là yếu tố đặc hiệu nhất góp phần vào sự trưởng thành của eosinophil - thành phần nổi bật của hen phế quản dị ứng nặng [5], [4]. Một số nghiên cứu đã chứng minh mối tương quan giữa sự hoạt hóa tế bào lympho T, tăng nồng độ IL-5 huyết thanh và dịch phế quản với mức độ nghiêm trọng của hen phế quản. Ức chế IL-5 có thể làm giảm hen phế quản và các bệnh viêm dị ứng khác mà không tiềm ẩn tác dụng phụ ức chế miễn dịch như steroid. Đây là một phương pháp điều trị tiềm năng. Hiện nay, vẫn chưa có thuốc phân tử nhỏ nào ức chế tương tác IL-5/IL-5R. 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-5 dựa trên tương tác IL-5/IL-5R là cần thiết, từ đó định hướng cho việc thiết kế, tổng hợp các thuốc điều trị dị ứng đường hô hấp thế hệ mới trong tương lai.

Phương pháp nghiên cứu

Cấu trúc các phân tử dùng để sàng lọc được thu thập từ các thư viện bao gồm Ngân hàng thuốc (Drug bank database) [6], thư viện mảnh cấu trúc Maybridge [8], thư viện mảnh cấu trúc Chemdiv [7], thư viện các hợp chất phân lập từ thuốc cổ truyền Trung hoa (Traditional chinese medicine database) [1], thư viện ZINC12 [2]. Xây dựng mô hình pharmacophore bằng phần mềm MOE 2015.10 theo phương pháp dựa vào cấu trúc mục tiêu tác động (structure base), sàng lọc bằng phần mềm MOE 2015.10 và ZINCPharmer. 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. Nghiên cứu sẽ lựa chọn các ligand có điểm số docking âm và tạo được nhiều tương tác với nhiều acid amin quan trọng để tiến hành mô phỏng động lực học phân tử bằng phần mềm GROMACS [3].

Kết quả và bàn luận

Các mô hình pharmacophore

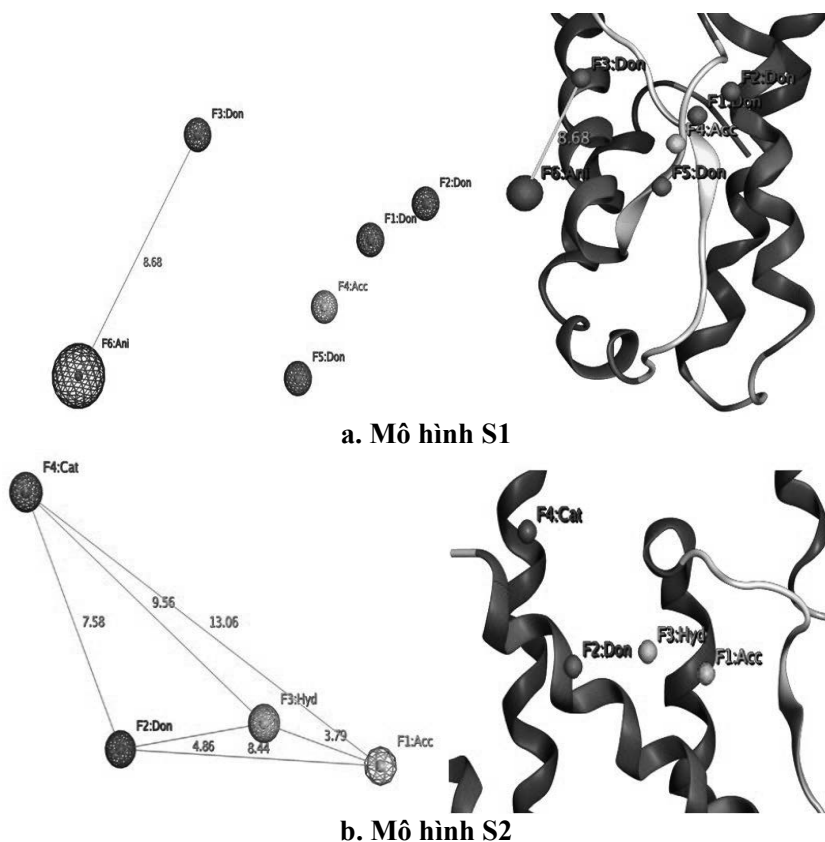
Từ cấu trúc 3D của protein IL-5 chứa cấu trúc tinh thể IL-5 gắn kết với thụ thể IL-5R (PDB ID là 3VA2), xây dựng các mô hình 3D-pharmacophore theo hướng tìm chất gắn kết IL-

5 dựa vào cấu trúc thụ thể IL-5R. IL-5 gắn kết với IL-5R tại 3 vị trí, tuy nhiên tại vị trí 3 ít đóng góp vào năng lượng liên kết nên xây dựng mô hình pharmacophore tại vị trí 1 và 2.

Các mô hình 3D-pharmacophore cho chất gắn kết IL-5

Thực hiện truy vấn Pharmacophore thu được mô hình 3D-pharmacophore cho chất gắn kết IL-5 tại vị trí 1 (mô hình S1) có 6 điểm pharmacophore: Thr79 (*F1: Don*), Arg80 (*F2: Don*), Ser84 (*F3: Don*), Glu78 (*F4: Acc, F5: Don*), Asp75 (*F6: Ani*) và mô hình chất gắn kết IL-5 tại vị trí 2 (mô hình S2) có 4 điểm pharmacophore: Arg208 (*F1: Acc, F2: Don, F3: Hyd*), Lys206 (*F4: Cat*).

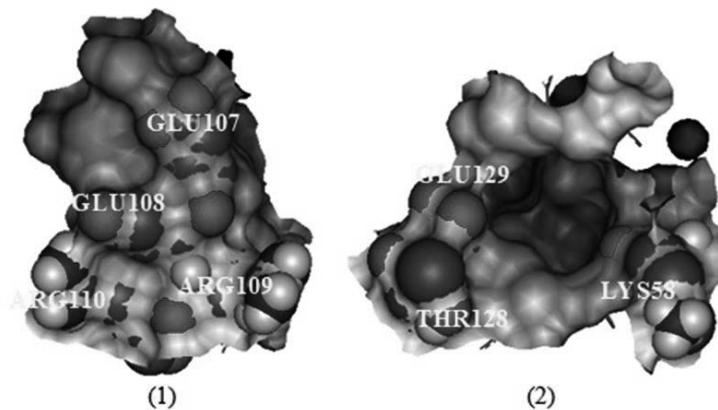
Mô hình S1, S2 và sự giống hệt của chúng lên IL-5 được minh họa ở **Hình 1**.



Hình 1: Mô hình S1, S2 và sự giống hệt lên IL-5

Các mô hình mô tả phân tử docking

Cấu trúc protein của IL-5 sau khi đã chuẩn bị bằng công cụ MOE 2015.10 được tải vào phần mềm LeadIT 2.3.2. Tại mỗi vị trí 1 và 2 của IL-5, các acid amin quan trọng được chọn (bằng công cụ Project Tree) để tạo khoang gắn kết và mở rộng bán kính bao phủ toàn bộ các acid amin. Kết quả thu được mô hình D-S1, D-S2 như minh họa ở **Hình 3**.

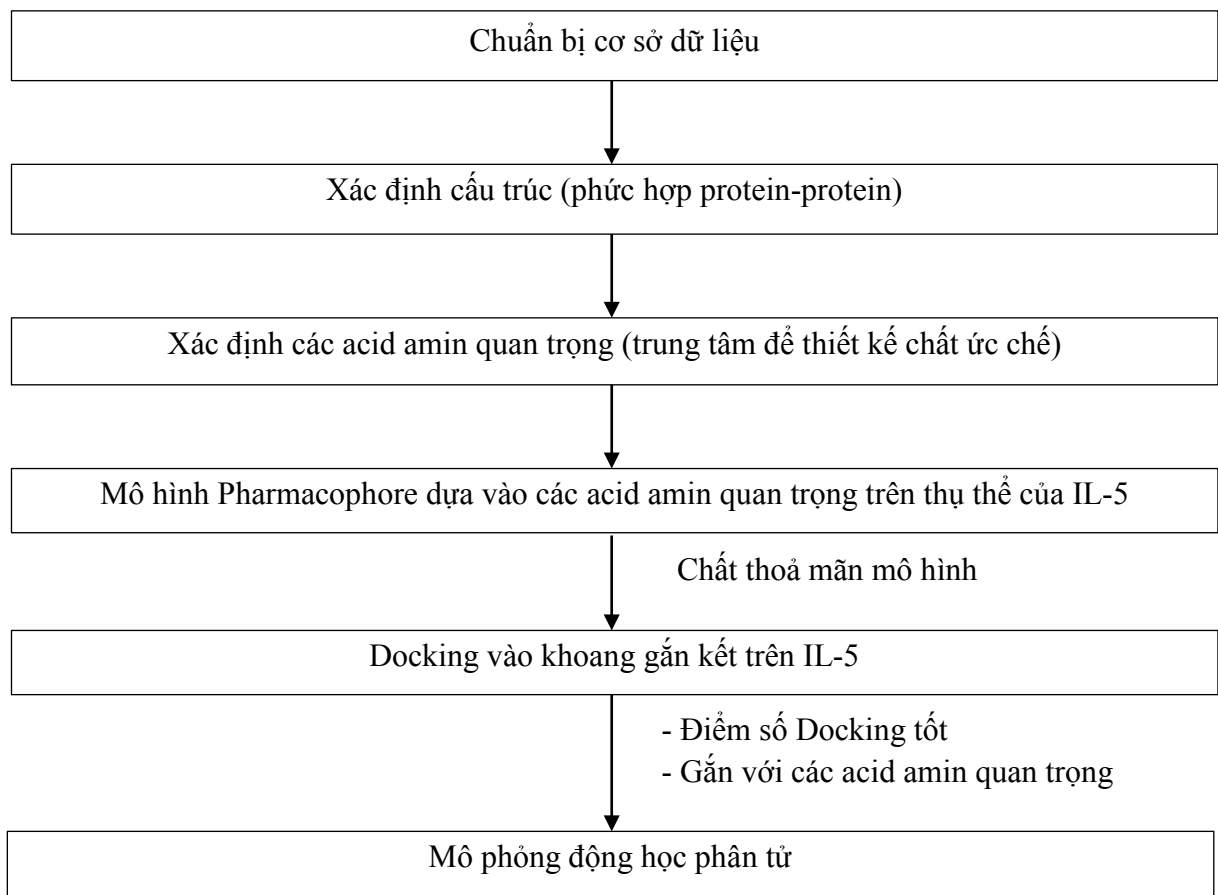


Hình 2. Mô hình mô tả phân tử docking D-S1 (1), D-S2 (2)

Có thể thấy khoang gắn kết trong mô hình D-S2 có độ sâu hơn so với mô hình D-S1.

Sàng lọc ảo

Quy trình sàng lọc ảo được tóm tắt như **Hình 3**.



Hình 3. Sơ đồ tóm tắt quy trình sàng lọc ảo

Tiến hành sàng lọc trên cơ sở dữ liệu gồm 22.871.081 cấu trúc theo quy trình ở **Hình 3**. Qua các mô hình pharmacophore sàng lọc còn 513 chất gắn kết với IL-5 (251 chất gắn vị trí 1; 262 chất gắn vị trí 2). Sau đó, tiến hành sàng lọc qua các mô hình docking. Kết quả thu được còn lại 465 chất. Trong đó, 208 chất gắn kết vị trí 1 của IL-5, 257 chất gắn kết vị trí 2 của IL-5.

Nghiên cứu tiến hành phân tích và chọn ra 2 chất đại diện có kết quả docking tốt và tương tác với các acid amin quan trọng, đó là ZINC33932757, ZINC43527334 để tiếp tục giai đoạn mô phỏng động học phân tử. Điểm số docking và các acid amin quan trọng có tương tác với các chất này được trình bày ở **Bảng 1**.

Bảng 1. Điểm số docking và các acid amin quan trọng tương tác với 2 chất đại diện mô hình D-S1 và D-S2

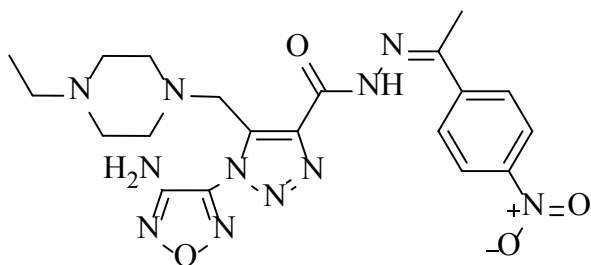
STT	Tên hợp chất	Điểm số docking - Năng lượng gắn kết (kJ/mol)	Acid amin quan trọng của IL-5 tương tác (Cấu dạng gắn kết)
1	ZINC33932757	-19,61	Glu107, Glu108, Arg109, Arg110
2	ZINC43527334	-28,56	Lys58B, Thr128A, Glu129A

Từ **Bảng 1** cho thấy, cả 2 chất đại diện đều tạo được tương tác với các acid amin quan trọng trong khoang gắn kết và có kết quả docking tốt, thể hiện tiềm năng gắn kết tốt với IL-5

Mô phỏng động học phân tử

Mô phỏng động học phân tử (Molecular Dynamics Simulation) hay gọi tắt là MDS là sự mô phỏng việc tương tác của các nguyên tử hay phân tử dựa trên các định luật vật lý trên mô hình máy tính. Các tính toán đòi hỏi mô tả chuyển động cơ học lượng tử và phản ứng hóa học của hệ phân tử lớn rất phức tạp và việc mô phỏng rất nặng nề, tốn nhiều thời gian và tài nguyên máy tính. Vì vậy, nghiên cứu tập trung vào việc mô phỏng động học phân tử cho 2 chất đại diện, đó là ZINC33932757, ZINC43527334.

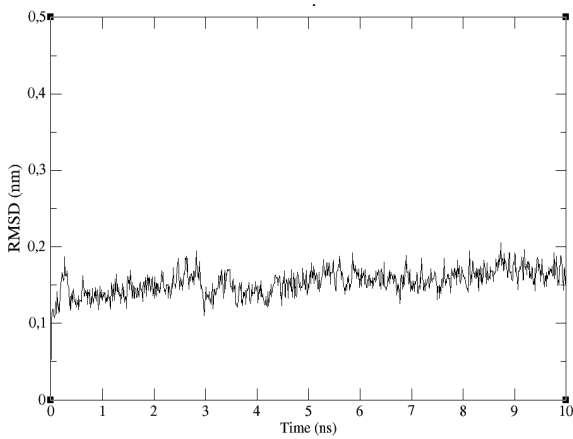
Tiến hành khảo sát mô phỏng động học phân tử với thời gian 10 ns. Thông tin về cấu trúc hóa học, giá trị RMSD của ligand và protein; giá trị RMSF các nguyên tử của ligand trong phức hợp của 2 chất trên được trình bày ở **Hình 5, Hình 6**.



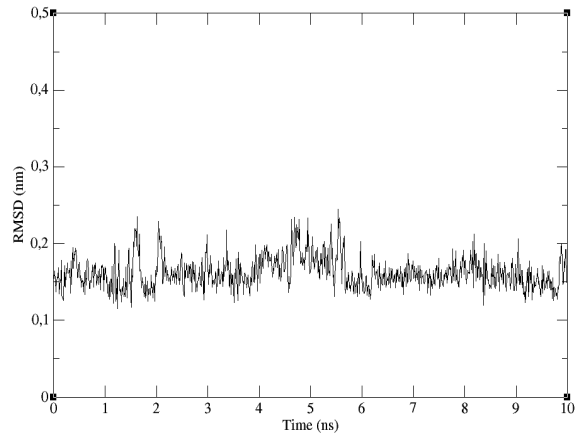
Công thức phân tử: C₂₀H₂₅N₁₁O₄

Phân tử lượng: M= 483,493

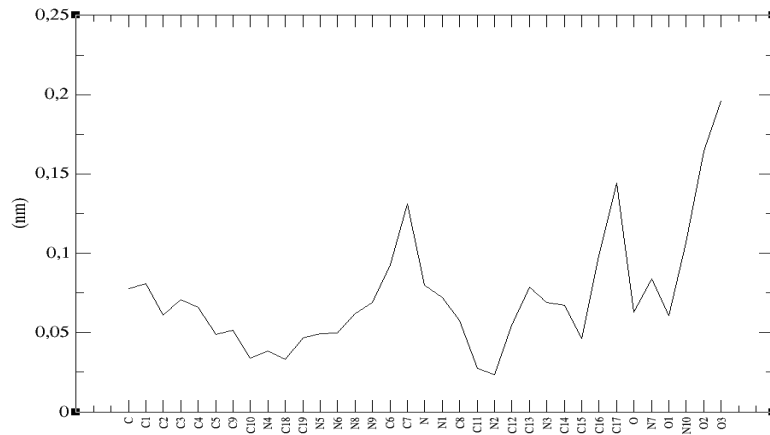
a. Cấu trúc hóa học ZINC33932757, điểm số docking -19,61kJ/mol



b. RMSD của protein

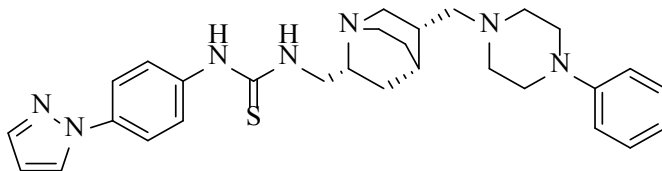


c. RMSD của ligand



d. RMSF các nguyên tử của ligand

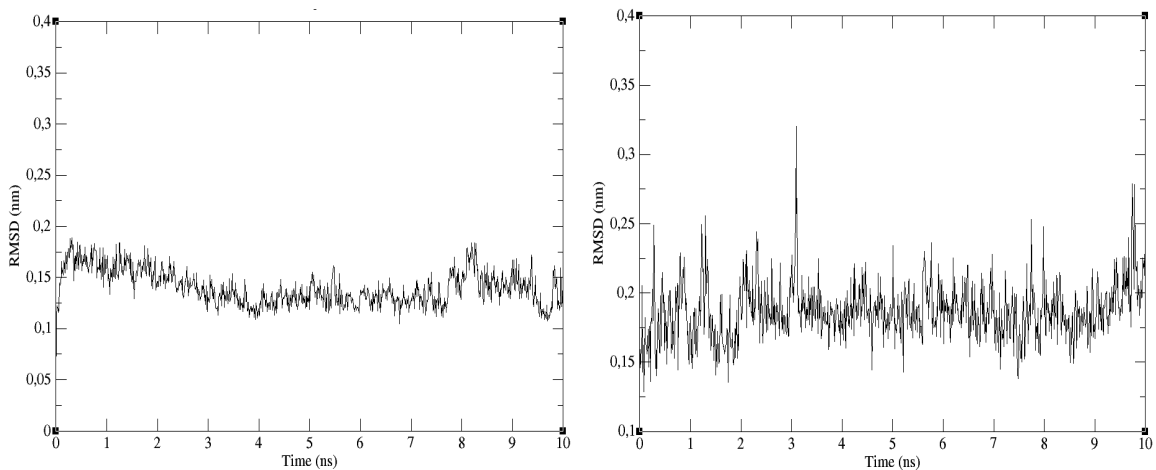
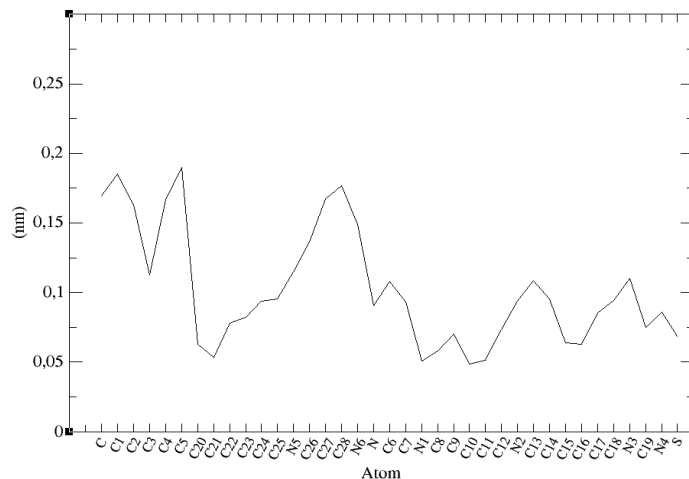
Hình 2. Giá trị RMSD của protein và ligand; giá trị RMSF các nguyên tử của ligand ZINC33932757 trong phức hợp



Công thức phân tử: $C_{29}H_{37}N_7S$

Phân tử lượng: $M = 515.731$

a. Cấu trúc hóa học ZINC43527334, điểm số docking -28,56 kJ/mol

**b. RMSD của protein****c. RMSD của ligand****d. RMSF các nguyên tử của ligand**

Hình 3. Giá trị RMSD* của protein và ligand; giá trị RMSF** các nguyên tử của ligand ZINC43527334 trong phức hợp

* Giá trị RMSD (căn bậc hai độ lệch trung bình bình phương) được sử dụng để đánh giá sự thay đổi của các nguyên tử có trong cấu trúc của protein và ligand trong một khoảng thời gian mô phỏng.

** Giá trị RMSF (căn bậc hai độ dao động trung bình bình phương) được sử dụng để khảo sát sự linh động của các nguyên tử nặng của ligand (khác hydro) trong quá trình mô phỏng động học.

Từ **Hình 5**, **Hình 6** có thể thấy được, các phức hợp protein-ligand của cả 2 chất khảo sát đều có giá trị RMSD của protein và ligand có biên độ dao động $< 0,2$ nm trong quá trình mô phỏng, cho thấy protein ổn định khi tương tác với ligand cũng như ligand gắn kết ổn định trong

khoang gắn kết. Giá trị RMSF của các nguyên tử của ligand đều $< 0,2$ nm cho thấy các nguyên tử trong cấu trúc của cả 4 ligand ổn định khi tương tác với protein. Quá trình mô phỏng động học cho kết quả tốt về các giá trị RMSD, RMSF cho thấy ZINC33932757, ZINC43527334 có khả năng gắn kết tốt với IL-5.

Kết luận

Sau khi sàng lọc cơ sở dữ liệu qua các mô hình *in silico* thì 513 chất thỏa mô hình 3D-pharmacophore (kết quả thu được từng mô hình S1, S2 lần lượt là 251 chất, 262 chất). Trong số đó, 465 chất thỏa mô hình mô tả phân tử docking, chiếm 90,64 % (kết quả của từng mô hình D-S1, D-S2 lần lượt là 208 chất, 257 chất). Tiến hành mô phỏng động học phân tử cho 2 chất tiềm năng từ kết quả sàng lọc gồm ZINC33932757, ZINC43527334. Các giá trị RMSD, RMSF thu được từ quá trình này đều khả quan cho thấy khả năng gắn kết tốt và ổn định vào khoang gắn kết của các chất tiềm năng. Để đạt được những bước tiến lớn hơn, chúng tôi đề nghị thực hiện tiếp: (i) tiếp tục nghiên cứu *in silico* cho tất cả chất tiềm năng đã sàng lọc được trong nghiên cứu này; dự đoán tính chất dược động học của các chất tiềm năng để tiếp tục tìm kiếm các chất mới có hoạt tính ức chế IL-5; (ii) Thử hoạt tính *in vitro* để xác định IC_{50} của các chất đã sàng lọc; phân tích sự gắn kết của các chất này với protein trên thực tế bằng các phương pháp như NMR hay X-Ray.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Chen Calvin Yu-Chian (2011), "TCM Database@Taiwan: The World's Largest Traditional Chinese Medicine Database for Drug Screening In Silico", *PLOS ONE*. 6(1), p. e15939.
- [2] Irwin John J., Sterling Teague, Mysinger Michael M., Bolstad Erin S., and Coleman Ryan G. (2012), "ZINC: a free tool to discover chemistry for biology", *Journal of chemical information and modeling*. 52(7), pp. 1757-1768.
- [3] S Van Der Spoel David, Lindahl Erik, Hess Berk, Groenhof Gerrit, Mark Alan E., and Berendsen Herman J. C. (2005), "GROMACS: Fast, flexible, and free", *Journal of Computational Chemistry*. 26(16), pp. 1701-1718.
- [4] Varricchi Gilda, Bagnasco Diego, Borriello Francesco, Heffler Enrico, and Canonica Giorgio W. (2016), "Interleukin-5 pathway inhibition in the treatment of eosinophilic respiratory disorders: evidence and unmet needs", *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 16(2), pp. 186-200.
- [5] Wenzel Sally E. (2006), "Asthma: defining of the persistent adult phenotypes", *The Lancet*. 368(9537), pp. 804-813.
- [6] Wishart David S., Feunang Yannick D., Guo An C., Lo Elvis J., Marcu Ana, Grant Jason R., Sajed Tanvir, Johnson Daniel, Li Carin, Sayeeda Zinat, Assempour Nazanin, Iynkkaran Ithayavani, Liu Yifeng, Maciejewski Adam, Gale Nicola, Wilson Alex, Chin Lucy, Cummings Ryan, Le Diana, Pon Allison, Knox Craig, and Wilson Michael (2017),

"DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018", *Nucleic Acids Research*. 46(D1), pp. D1074-D1082.

[7] Chemdiv, <http://www.chemdiv.com/>. **2019**.

[8] Maybridge, <https://www.maybridge.com/>. **2019**.