

STEP-BY-STEP GUIDE TO MOLECULAR DOCKING USING PYRX 0.8: PREDICTING INTERACTIONS OF CHALCONE-AMIDE DERIVATIVES WITH SARS-COV-2 PL^{PRO}

Nguyen Duy Tuan¹, Nguyen Cuong Quoc^{2*}, Tran Quang De², Tran Duy Khang¹

¹Nam Can Tho University, ²College of Natural Sciences - Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 29/6/2024	Molecular docking plays a crucial role in drug discovery by predicting the binding modes and affinities of small molecules with target proteins. This paper provides a comprehensive tutorial on molecular docking using PyRx tools, an open-source software with a user-friendly interface compatible with various operating systems. Specifically tailored for the first time in Vietnamese, this tutorial elucidates the step-by-step process of preparing data, conducting docking simulations, and analyzing results within the PyRx environment. Subsequently, the methodology is applied to predict the interactions of chalcone compounds against SARS-CoV-2 PL ^{PRO} . Notably, the obtained results demonstrate a high correlation with RMSD values consistently below 1.5 Å, indicative of structural similarity with published crystallographic data. This manuscript highlighted the reliability of the PyRx-based molecular docking approach and its efficacy in virtual screening and drug discovery efforts. This was particularly valuable in identifying novel therapeutic agents against emerging viral threats, which demonstrated the potential to significantly advance antiviral research.
Revised: 16/10/2024	
Published: 17/10/2024	
KEYWORDS	
Chalcone	
Docking	
PyRx	
SARS-CoV-2	
Crystallographic	

HƯỚNG DẪN TỪNG BƯỚC THỰC HIỆN DOCKING PHÂN TỬ BẰNG CÔNG CỤ MIỄN PHÍ PyRx 0.8 VÀ DỰ ĐOÁN TƯƠNG TÁC CỦA CÁC DẪN XUẤT CHALCONE-AMIDE CHỐNG LẠI PL^{PRO} SARS-COV-2

Nguyễn Duy Tuấn¹, Nguyễn Cường Quốc^{2*}, Trần Quang Đức², Trần Duy Khang¹

¹Trường Đại học Nam Cần Thơ, ²Khoa Khoa học Tự nhiên - Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 29/6/2024	Docking phân tử đóng một vai trò quan trọng trong việc phát triển thuốc bằng cách dự đoán các cấu hình và ái lực liên kết của các phân tử với protein/thụ thể mục tiêu. Bài báo này cung cấp hướng dẫn chi tiết về cách thực hiện docking phân tử bằng công cụ PyRx - một phần mềm nguồn mã mở có giao diện thân thiện với người dùng, tương thích với nhiều hệ điều hành khác nhau. Đây là tài liệu bằng tiếng Việt đầu tiên hướng dẫn sử dụng công cụ PyRx, hướng dẫn quy trình từng bước chuẩn bị, tiến hành mô phỏng lắp ghép và phân tích kết quả. Sau đó, phương pháp này được áp dụng để dự đoán cấu hình tương tác của các hợp chất chalcone-amide chống lại PL ^{PRO} SARS-CoV-2. Kết quả thu được cho thấy mối tương quan cao, giá trị RMSD luôn dưới 1,5 Å, điều này thể hiện sự tương đồng cấu trúc so với dữ liệu tinh thể học đã được công bố. Bài báo này nêu bật độ tin cậy của phương pháp docking phân tử dựa trên công cụ PyRx và tính hiệu quả trong nghiên cứu sàng lọc ảo và khám phá thuốc. Điều này đặc biệt hữu ích trong việc xác định các tác nhân trị liệu chống lại các mối đe dọa bởi các virus mới nổi và cho thấy tiềm năng thúc đẩy nghiên cứu về các tác nhân chống virus mới trong tương lai.
Ngày hoàn thiện: 16/10/2024	
Ngày đăng: 17/10/2024	
TỪ KHÓA	
Chalcone	
Docking	
PyRx	
SARS-CoV-2	
Tinh thể học	

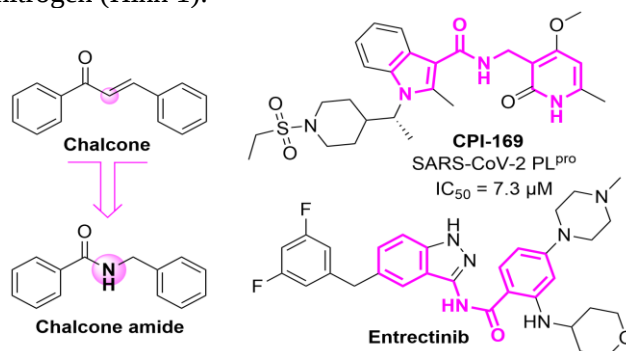
DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10680>

* Corresponding author. Email: ncquoc@ctu.edu.vn and cuongquoc.cantho@gmail.com

1. Giới thiệu

Trong bối cảnh dịch bệnh toàn cầu do virus SARS-CoV-2 gây ra, nhu cầu tìm kiếm các phương pháp hiệu quả để phát triển các loại thuốc chống lại COVID-19 là cấp bách và cần thiết [1]. Trong lĩnh vực nghiên cứu thuốc, docking phân tử (molecular docking) đã trở thành một công cụ quan trọng để dự đoán tương tác giữa các phân tử tiềm năng và các protein mục tiêu, từ đó định hướng và hỗ trợ các phương pháp điều trị mới [2], [3]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã sử dụng các kết quả trực quan hóa từ docking để diễn giải cơ chế tương tác giữa thuốc và mục tiêu điều trị, hỗ trợ định hướng phát triển trị liệu nhắm mục tiêu [4]-[9]. Bằng cách kết hợp kiến thức về cấu trúc phân tử và tính toán, nghiên cứu này sẽ hướng dẫn từng bước trong quá trình chuẩn bị dữ liệu, thực hiện docking và phân tích kết quả, giúp người đọc, người nghiên cứu hiểu rõ cách thức hoạt động cũng như ứng dụng của docking phân tử trong nghiên cứu thiết kế thuốc. Nghiên cứu nhằm mục đích cung cấp một hướng dẫn đầy đủ, chi tiết và toàn diện về quy trình thực hiện docking phân tử dựa trên bộ công cụ miễn phí PyRx phiên bản 0.8. Hiện tại, đã có hơn 2600 trích dẫn nghiên cứu sử dụng PyRx cho công việc hỗ trợ mô phỏng tương tác phân tử với các mục tiêu điều trị bệnh [10]. Phần mềm hỗ trợ docking phân tử PyRx 0.8 có giao diện dễ sử dụng và khả năng tương thích với nhiều hệ điều hành, đã thu hút sự quan tâm của cộng đồng nghiên cứu trong việc thực hiện phương pháp docking phân tử [10]. Bên cạnh đó, nghiên cứu này mô tả một ứng dụng cụ thể của docking phân tử trong dự đoán tương tác của một số dẫn xuất chalcone-amide chống lại papain-like cysteine protease (PL^{pro}) SARS-CoV-2. PL^{pro} được cho là có vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của virus [11]. Nhiều chức năng quan trọng của PL^{pro} khiến nó trở thành một mục tiêu tiềm năng cho việc phát triển thuốc chống lại COVID-19 [12].

Kể từ khi con người tiếp xúc với dịch bệnh SARS và MERS coronavirus trong hai thập kỷ qua, nhiều cấu trúc hóa học đã được xác định có tác dụng ức chế đáng kể chống lại các loại virus này [13]. Trong số các cấu trúc đa dạng này, các hợp chất có khung chalcone-amide có tác dụng ức chế PL^{pro} virus là một trong những hợp chất hứa hẹn từng được báo cáo. Chalcone-amide (*N*-benzylbenzamide) là chất tương tự chalcone thu được bằng cách thay thế nguyên tử carbon tại vị trí α bằng nguyên tử nitrogen (Hình 1).



Hình 1. Cấu trúc chung của chalcone-amide và đại diện các dẫn xuất có khả năng ức chế SARS-CoV-2

Hợp chất dựa trên chalcone-amide đầu tiên được xác định có tác dụng ức chế chống lại PL^{pro} SARS-CoV đã được xác định bằng sàng lọc thông lượng cao (high-throughput screening) dựa trên một thư viện đa dạng về cấu trúc gồm 50080 hợp chất [14]. Một số nghiên cứu còn cho thấy hợp chất chalcone-amide chống lại virus rhovirus ở người (HRV). CPI-169 là chất ức chế EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) gần đây được phát hiện có hoạt tính ức chế đối với enzyme PL^{pro} của SARS-CoV-2 ($IC_{50} = 7,3 \mu M$) [15]. Entrectinib là một loại thuốc chống ung thư được FDA phê chuẩn gần đây, đã được Garcia và cộng sự đề xuất như một chất ức chế SARS-CoV-2 trong tế bào mô phổi của con người hiệu quả [16].

Bằng cách sử dụng PyRx phối hợp với thông tin về cấu trúc phân tử các chất ức chế, nghiên cứu này hy vọng sẽ cung cấp những thông tin quan trọng và chi tiết về cách các phân tử chalcone-amide tương tác với PL^{pro}, tạo ra một cơ sở vững chắc cho việc phát triển các loại thuốc

chống COVID-19 hiệu quả. Đặc biệt, đây sẽ là tài liệu hướng dẫn bằng tiếng Việt đầu tiên hứa hẹn sẽ hữu ích dành cho các nghiên cứu định hướng ứng dụng kết hợp Hóa-Sinh-Tin học.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Yêu cầu cần thiết

Để thực hiện được nghiên cứu docking phân tử, máy tính cần được cài đặt một số phần mềm như:

- PyRx 0.8:  PyRx (<https://pyrx.sourceforge.io/home>)
- Discovery Studio Visualizer:  DiscoveryStudio (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>)

Ngoài ra, cần thiết cài đặt thêm một số phần mềm hỗ trợ như Open Babel, GaussView, Chimera, Gaussian, Chem 3D và PyMol.

Nghiên cứu này được thực hiện trên máy tính Dell, Intel® Core™ i5 thế hệ 11, RAM 16gb, bộ nhớ SSD 512gb, trang bị card đồ họa NVIDIA GeForce 4gb.

2.2. Chuẩn bị thụ thể (enzyme/protein)

Cấu trúc PL^{pro} SARS-CoV-2 được tải về từ RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) với mã định danh 7CJM [17]. Cấu trúc đại phân tử sau đó được xử lý bằng Discovery Studio Visualiser.

2.3. Chuẩn bị phối tử (ligand)

Phối tử được tải về từ Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) hoặc được vẽ bằng chem3D. Sau đó các phối tử được tối ưu hóa cấu trúc bằng lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT/6-31G(d)) trên Gaussian. Các cấu trúc được lưu dưới định dạng *.mol2 bằng Open Babel trước khi thực hiện bước docking phân tử.

2.4. Docking phân tử

Docking phân tử được thực hiện bằng công cụ PyRx 0.8 [10]. Các thông số cài đặt được thực hiện theo như khuyến nghị từ nhà sản xuất. Vùng không gian thực hiện gắn kết có tâm đặt tại vị trí chất ức chế đồng kết tinh. Quá trình mô tả cách thực hiện chi tiết được trình bày trong Phần 3 (Kết quả và bàn luận), tiểu mục 3.1.

2.5. Xử lý dữ liệu

Kết quả docking được trực quan hóa và hiển thị bằng Discovery Studio Visualizer. Mô hình redocking được đánh giá tốt nhất khi có giá trị RMSD < 2 Å.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hướng dẫn thực hiện docking phân tử bằng công cụ miễn phí PyRx 0.8

Bước 1: Truy xuất tệp protein.pdb từ cơ sở dữ liệu protein data bank (Hình 2-3).

☞ Truy cập website <https://www.rcsb.org/>.

☞ Nhập protein/enzyme cần truy xuất “SARS CoV-2 PL^{pro}”



Hình 2. Truy xuất protein/enzyme từ cơ sở dữ liệu RCSB (<https://www.rcsb.org/>)



Hình 3. Tải cấu trúc protein/enzyme từ cơ sở dữ liệu RCSB (<https://www.rcsb.org/>)

⇒ Chọn protein/enzyme có mã định danh phù hợp với nghiên cứu (nghiên cứu lựa chọn ID PDB 7CJM).

⇒ Click “**Download files**” → **PDB format**.

Ghi chú: File PDB tải về có định dạng *.rar

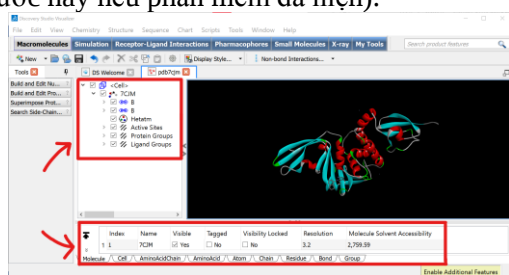
(7cjm) nên cần được giải nén để sử dụng cho bước tiếp theo.

Bước 2: Xử lý cấu trúc protein/enzyme bằng Discovery Studio Visualiser (Hình 4-5).

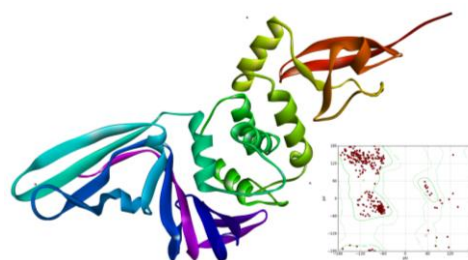
⇒ Mở file cấu trúc PL^{pro} SARS-CoV-2 bằng Discovery Studio Visualiser.

File/Open → Chọn đường dẫn đến nơi chứa file PDB (7cjm.pdb)

⇒ Click **View/chọn Hierarchi** và **Data table** để hiện các thanh công cụ điều khiển (bỏ qua bước này nếu phần mềm đã hiện).



Hình 4. Hiện các thanh công cụ điều khiển cần thiết trong Discovery Studio Visualiser



Hình 5. Cấu trúc PL^{pro} SARS-CoV-2 (Ghi chú: Giản đồ Ramachandran hiển thị dưới góc phải)

⇒ Chọn **Hetatm** (Hetatm) → click chuột phải chọn **Remove group**.

⇒ Chọn **Ligand Groups** (Ligand Groups) → Click **Delete** (X) (nếu cấu trúc tinh thể có phân tử nước chọn Water/Delete).

⇒ **File/Save as**, chọn đường dẫn, lưu file dưới định dạng protein data banks files (*.pdb).

Ghi chú: Nên tối ưu hóa cấu trúc/năng lượng của protein/enzyme bằng các công cụ hỗ trợ như Yasara, Swiss PDB Viewer, MOE, Maestro, v.v. sau khi xóa các phân tử nước và các hợp chất đồng kết tinh, để thu được cấu trúc có giản đồ Ramachandran đáng tin cậy (Hình 5).

Bước 3: Truy xuất phối tử từ cơ sở dữ liệu (Hình 6-8).

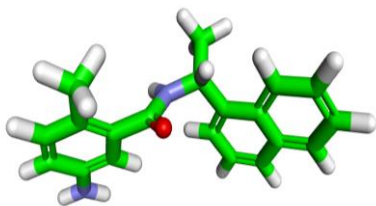
⇒ Cấu trúc phối tử được lấy từ cơ sở dữ liệu Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Trong nghiên cứu này, GRL0617 được chọn làm phối tử nghiên cứu vì nó đã được chứng minh là ứng cử viên có hoạt tính ức chế PL^{pro} của SARS-CoV-2 [17].

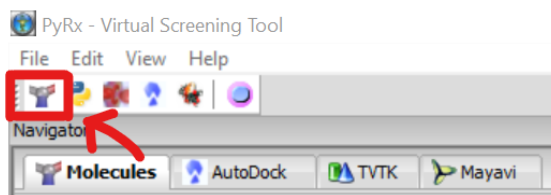


Hình 6. Truy xuất phối tử từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

⇒ Tải cấu trúc phối tử bằng định dạng *.sdf.



Hình 8. Cấu trúc tối ưu của phổi tử GRL0617



Hình 9. Nạp cấu trúc protein/enzyme vào công cụ PyRx

Bước 4: Docking phân tử sử dụng PyRx 0.8 (phiên bản miễn phí) (Hình 9-16).

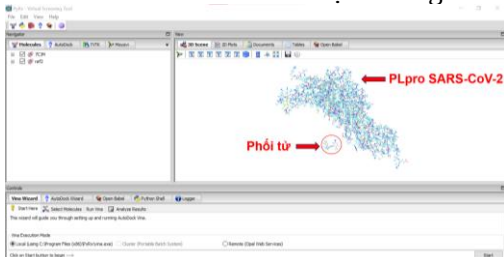
☞ Tải cấu trúc protein/enzyme vào giao diện làm việc của công cụ PyRx.

File/Load molecule → Chọn đường dẫn chứa cấu trúc file pdb của PL^{pro} SARS-CoV-2.

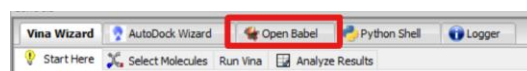
Hoặc có thể click vào biểu tượng **Load molecular (MolKit)** trên thanh công cụ.

☞ Tải cấu trúc phổi tử vào giao diện làm việc của công cụ PyRx.

File/Load molecule → Chọn đường dẫn chứa cấu trúc file mol2 của phổi tử.



Hình 10. Cấu trúc protein/enzyme và phổi tử trong giao diện làm việc PyRx



Hình 11. Nạp phổi tử vào công cụ PyRx thông qua Openbabel

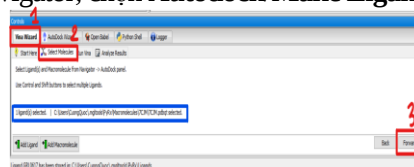
Lưu ý: Ngoài ra, chúng ta cũng có thể sử dụng công cụ Openbabel để tiến hành tải cấu trúc phổi tử vào màn hình làm việc PyRx (Hình 11). Công cụ Openbabel được tích hợp sẵn cho phép chúng ta tối ưu hóa năng lượng (Minimize All/Selected) mà không cần sử dụng các phần mềm hỗ trợ khác.

☞ Click cấu trúc (7CJM) trong hộp điều khiển Navigator, chọn **Autodock/Make Macromolecule**.

☞ Click phổi tử (GRL0617) trong hộp điều khiển Navigator, chọn **Autodock/Make Ligand**.



Hình 12. Định danh các đối tượng protein/enzyme hoặc phổi tử cho quá trình docking



Hình 13. Chọn lựa các phổi tử cần thiết cho quá trình docking phân tử

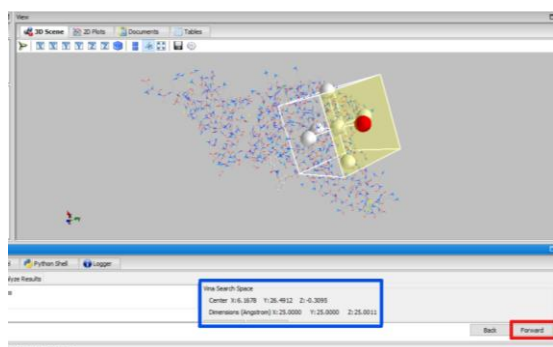
☞ Chọn hộp điều khiển Controls, click **Vina Wizard/Select Molecules** sẽ hiển thị phổi tử đã được chọn và đường dẫn chứa phân tử PL^{pro} SARS-CoV-2 được chọn. Click chọn **Forward**.

Ghi chú: Nếu muốn thêm phổi tử chọn Add Ligand () hoặc thay đổi protein/enzyme chọn Add Macromolecule ()

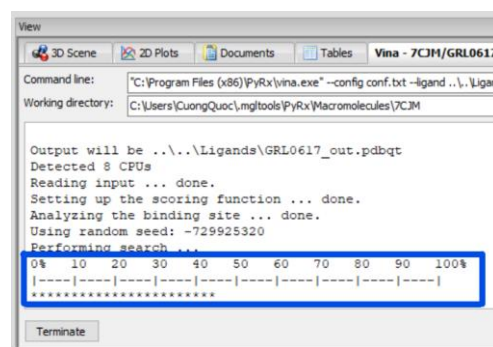
☞ Chọn kích thước hộp lưới (vùng không gian cho quá trình docking) tại tab **RunVina** bằng cách click giữ chuột và kéo thả. Sau đó, chọn **Forward** (Hình 14).

Thông thường, hộp lưới được căn giữa theo chất ức chế đồng kết tinh, tuy nhiên, trong các trường hợp khác, nó có thể được xác định theo từng vị trí trung tâm hoạt động của protein/enzyme. Trong nghiên cứu này, tọa độ của hộp lưới được lựa chọn dựa trên vị trí hoạt động liên kết với phổi tử đã biết của PL^{pro} SARS-CoV-2. Tọa độ hộp lưới có tâm tại vị trí:

$$X:Y:Z = 6.004522: 26.075304: -0.336000$$



Hình 14. Thiết lập vùng không gian cho quá trình docking phân tử



Hình 15. Cửa sổ trực quan quá trình docking phân tử (Quá trình docking phân tử hoàn tất khi gián đồ đạt giá trị 100%)

➤ Cửa sổ Command Prompt xuất hiện, quá trình docking hoàn tất khi tiến trình báo 100%.
Quá trình docking hoàn tất. Kết quả cho thấy GRL0617 cho năng lượng liên kết với PL^{pro} SARS-CoV-2 đạt -9,3 kcal/mol (Hình 16).

Ligand	Binding affinity (kcal/mol)	Hydrophobic	Hydrophilic	Hydrophobic	Hydrophilic
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0
GRL0617	-9.3	0.0	0.0	0.0	0.0

Hình 16. Cửa sổ hiển thị các thông tin cần thiết khi quá trình docking hoàn tất

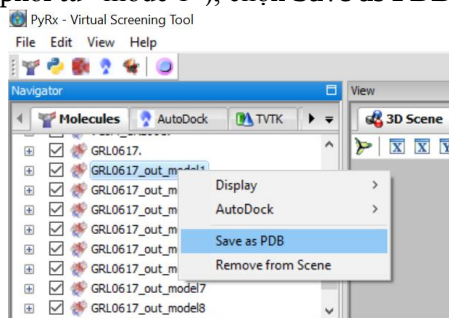


Hình 17. Truy xuất dữ liệu kết quả docking dưới dạng file văn bản *.csv

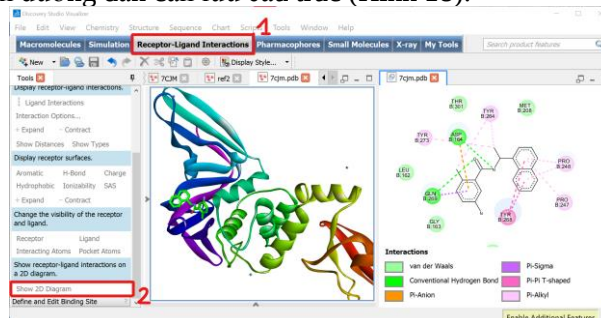
Bước 5: Truy xuất kết quả docking

➤ Kết quả có thể được xuất ra dưới dạng *.csv bằng lệnh Save as Comma Separated Values (CSV) trong cửa sổ Controls (Hình 17).

➤ Chọn hộp điều khiển Navigator, click chuột phải vào phối tử cần phân tích (thông thường là phối tử "mode 1"), chọn **Save as PDB**/Chọn đường dẫn cần lưu cấu trúc (Hình 18).



Hình 18. Truy xuất dữ liệu kết quả docking (phối tử) dưới dạng tệp không gian ba chiều (3D)



Hình 19. Trực quan cấu hình liên kết bằng không gian hai chiều (2D)

Ngoài ra, dữ liệu các mô hình docking 3D được lưu tự động ở định dạng *.pdbqt trong folder Users tại ổ đĩa C.

User/Admin/.mglttools/PyRx/Macromolecules/
7CJM/GRL0617_out.pdbqt

(Lưu ý: folder gạch chân có thể khác biệt tùy thuộc vào tên cá nhân của người dùng).

Bước 6: Trực quan hóa mô hình docking bằng Discovery Studio Visualiser.

➤ Mở file cấu trúc mô hình docking PDB bằng Discovery Studio Visualiser.

File/Open → Chọn đường dẫn đến tập file mô hình.

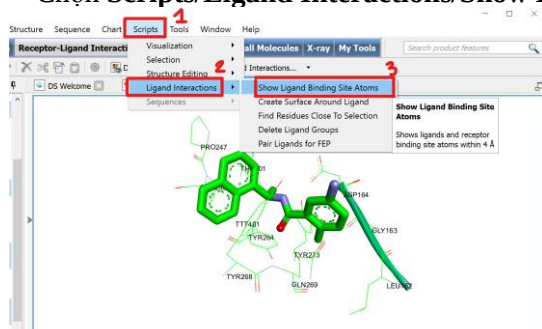
Hoặc có thể sử dụng kết quả file *.pdbqt bằng cách kéo thả chuột file pdbqt vào cửa sổ mô hình cấu trúc PL^{pro} đã mở trước đó.

↗ Hiển thị tương tác 2D (Hình 19).

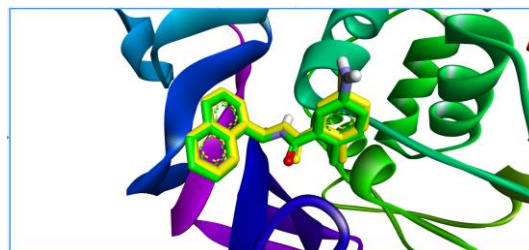
Chọn **Receptor-Ligand Interactions/Show 2D Diagram**.

↗ Hiển thị cấu hình tương tác 3D (Hình 20).

Chọn **Scripts/Ligand Interactions/Show Ligand Binding Site Atoms**



Hình 20. Trực quan cấu hình liên kết bằng không gian ba chiều (3D)



Hình 21. Kết quả redocking của chất ức chế GRL0617 với PL^{pro} SARS-CoV-2 (Ghi chú: Phối từ màu xanh là kết quả docking, phối từ màu vàng là cấu trúc đồng kết tinh từ RCSB (ID PDB 7CJM))

Nhận xét mô hình docking

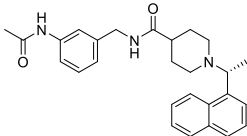
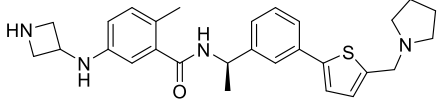
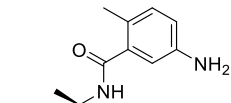
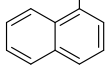
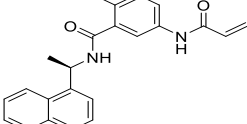
Mô hình docking phân tử vừa thực hiện cho kết quả khá tương đồng so với mô hình tinh thể X-Ray ban đầu được tải về từ RCSB (Hình 21). Cụ thể, giá trị RMSD thu được đạt 0,4867 Å, điều này chứng tỏ sử dụng PyRx thu được mô hình docking đạt độ tin cậy cao, lệch so với kết quả thực nghiệm thấp. Các tương tác với một số amino tại trung tâm hoạt động như Asp164, Gln269, Tyr264, Tyr273, Pro247, Pro248, Tyr268 đều được quan sát thấy.

3.2. Dự đoán các tương tác của một số dẫn xuất chalcone-amide chống lại SARS-CoV-2

Dựa trên những nghiên cứu về phân tử thu được từ các nghiên cứu tinh thể học, các amino acid quan trọng tại trung tâm hoạt động PL^{pro} SARS-COV-2 chứa các gốc Cys111, His272 và Asp286. Ngoài ra, vị trí hoạt động còn ghi nhận thêm một số cystein quan trọng bao gồm Cys189, Cys192, Cys224 và Cys226 [13], [18]. Sử dụng PyRx 0.8 thu được cấu hình liên kết các chất đồng kết tinh (Bảng 1) trong các mô hình redocking với PL^{pro} SARS-COV-2 đạt độ tin cậy cao, tương đồng so với cấu hình liên kết trong cấu trúc tinh thể trích xuất từ RCSB, các giá trị RMSD thu được đều nhỏ hơn 1,5 Å (Hình 22).

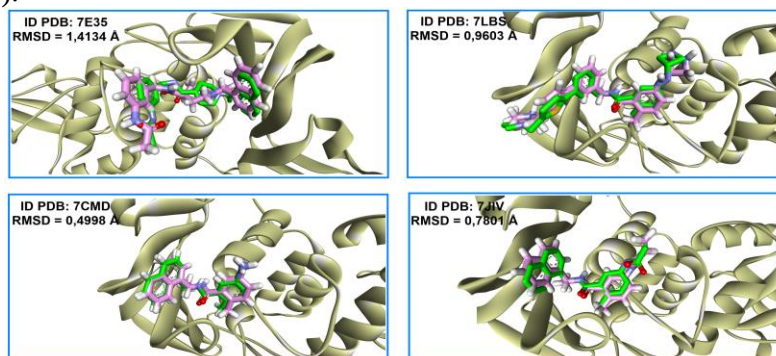
Cụ thể với cấu hình liên kết được tái tạo của dẫn xuất chalcone-amide (GRL0617) trong mô hình phức hợp 7CJM cho thấy các gốc tương tác quan trọng nhất với chất ức chế này tại vị trí hoạt động PL^{pro} là Asp164, Pro247, Pro248, Tyr268 và Gln269 (Hình 23). Các tương tác quan trọng nhất của GRL0617 trong vị trí hoạt động có liên quan đến nhóm amide, trong đó nhóm carbonyl hình thành tương tác liên kết hydrogen mạnh giữa nhóm –NH– với gốc Gln269. Ngoài ra, nitrogen của gốc amide tạo thành một tương tác liên kết hydrogen mạnh khác với –OH của Asp164. Vòng naphthyl nằm trong túi kỵ nước (được hình thành bởi chuỗi bên của Pro247 và Pro248 và các vòng thơm của Tyr264 và Tyr268) tạo ra năm tương tác bao gồm ba tương tác pi-alkyl với vòng pyrrolidine của proline, hai tương tác pi-pi T-shaped với vòng phenyl của Tyr268. Ngoài ra, cấu hình R của nhóm methyl rất quan trọng đối với việc định hướng và đặt vòng naphthyl trong không gian kỵ nước để tạo ra số lượng tương tác này [13].

Bảng 1. Cấu trúc tinh thể X-ray của PL^{pro} SARS-CoV-2 liên kết với các chất ức chế dựa trên các chalcone-amide khác nhau

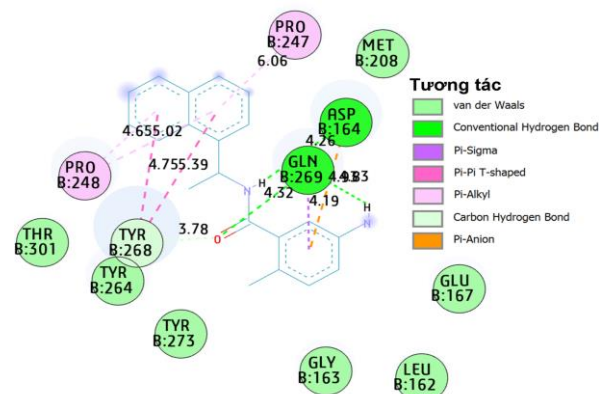
ID PDB	Ngày công bố ^a	Cấu tạo chất ức chế đồng kết tinh ^a	Amino acid tương tác ^b	IC ₅₀ (μM) ^d
7E35 (315) ^c	17/3/2021		Leu163, Gly164, Asp165, Pro248, Pro249, Tyr265, Tyr269	2,00 ^e
7LBS (316)	24/02/2021		Leu162, Asp164, Glu167, Pro248, Tyr264, Gly266, Asn267, Tyr268, Gln269	0,56 ^f
7CMD (319)	02/9/2020		Leu162, Asp164, Pro248, Tyr264, Tyr268, Gln269, Tyr273	1,61 ^g
7CJM (316)	02/9/2020		Asp164, Pro247, Pro248, Tyr264, Tyr268, Gln269	
7JIV (318)	05/8/2020		Asp164, Glu167, Pro247, Pro248, Tyr264, Tyr268, Gln269	6,4 ^h

Ghi chú: ^aDựa trên dữ liệu từ RCSB. ^bDựa trên các tương tác chính từ cấu trúc tinh thể tải về trên RCSB. ^cSố liệu trong ngoặc đơn biểu thị số lượng amino acid. ^dThử nghiệm ức chế PL^{pro} SARS-CoV-2 in vitro. ^eShan và cộng sự năm 2021 [19]. ^fTheo nghiên cứu của Shen và cộng sự năm 2021 [15]. ^gTheo nghiên cứu của Gao và cộng sự năm 2021 [18]. ^hTheo nghiên cứu của Osipiuk và cộng sự năm 2021 [20]

Gần đây, Fearon và cộng sự đã công bố cấu trúc tinh thể tia X của một hợp chất mới có khung chalcone-amide liên kết trong vị trí hoạt động của 3CL^{pro} SARS-CoV-2 (ID PDB: 5RH8) tạo ra hai liên kết hydrogen với Asn142 và Glu166 [21]. Việc đạt được và phát triển các tác nhân chống SARS-CoV-2 có hoạt tính ức chế đồng thời chống lại cả PL^{pro} và 3CL^{pro} có thể làm tăng thêm hy vọng tìm ra loại thuốc hiệu quả để điều trị COVID-19. Trong một nghiên cứu thiết kế thuốc dựa trên cấu trúc, Osipiuk và cộng sự đã kết tinh cấu trúc của SARS-CoV-2 PL^{pro} và một số chất ức chế PL^{pro} mới có cấu trúc liên quan đến hợp chất GRL0617 [20]. Đánh giá các tương tác và liên kết tại vị trí hoạt động chỉ ra rằng các hợp chất liên kết ở cùng một vị trí (nằm cách các gốc cysteine từ 8–10 Å) và theo cách rất giống nhau như đã quan sát trước đây đối với GRL0617 được tạo ra bởi các gốc Asp164, Glu167, Pro247, Pro248, Tyr264, Tyr268, Gln269 và Tyr273 (ID PDB: 7JIV).



Hình 22. Cấu hình liên kết của các hợp chất chalcone-amide tại trung tâm hoạt động PL^{pro} SARS-CoV-2 (Ghi chú: Kết quả redocking hiển thị cấu tử màu hồng, cấu tử màu xanh được trích xuất từ cấu trúc trên RCSB)



Hình 23. Tương tác giữa chất ức chế GRL0617 với PL^{pro} SARS-CoV-2 (ID PDB: 7CJM)
(Ghi chú: Các chữ số biểu thị khoảng cách, đơn vị tính Å)

Một phát hiện quan trọng khác của các nghiên cứu là việc thay thế naphthyl bằng khung 2-phenyl-thiophene đã tạo ra các dẫn xuất có hoạt tính tốt hơn, trong đó, thành phần chính là (R)-N-(1-(3-(thiophen-2-yl)phenyl)ethyl)benzamide [15]. Hợp chất có hoạt tính ức chế PL^{pro} mạnh với IC₅₀ = 0,56 μ M, cấu trúc tia X của chất ức chế này trong phức hợp PL^{pro} có ID PDB là 7LBS. Nghiên cứu về sự tương tác của hợp chất này trong vị trí hoạt động của SARS-CoV-2 PL^{pro} cho thấy sự hình thành các liên kết hydrogen mạnh hơn so với hợp chất GRL0617. Dựa trên cấu hình liên kết hợp chất này tạo ra 14 tương tác mạnh với 8 amino acid bao gồm Leu162, Asp164, Pro248, Tyr264, Gly266, Asn267, Tyr268 và Gln269. Trong khi đó, GRL0617 cũng hình thành các tương tác gần như tương tự với bảy amino acid Leu162, Asp164, Pro248, Tyr264, Tyr268, Gln269 và Tyr273 (ID PDB: 7CMD) (Bảng 1).

4. Kết luận

Docking phân tử đóng vai trò quan trọng trong phát triển thuốc, dự đoán cấu hình và ái lực liên kết của các phân tử với protein/thụ thể mục tiêu. Bản thảo này cung cấp hướng dẫn chi tiết bằng tiếng Việt về cách sử dụng PyRx - phần mềm nguồn mở thân thiện, tương thích với nhiều hệ điều hành. Hướng dẫn và ví dụ ứng dụng trong bản thảo này không chỉ giúp người đọc sử dụng PyRx hiệu quả mà còn khẳng định tính chính xác và đáng tin cậy của công cụ trong việc dự đoán các tương tác phân tử, góp phần quan trọng cho phát triển thuốc. Ngoài ra, trong nghiên cứu này, khung sườn chalcone-amide được giới thiệu như một bộ xương độc đáo để thiết kế và phát triển các chất ức chế SARS-CoV-2. Cấu hình liên kết của các dẫn xuất chalcone-amide trong vị trí hoạt động PL^{pro} SARS-CoV-2 có thể hỗ trợ sự phát triển của các tác nhân chống COVID-19 trong tương lai.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này thuộc nội dung đề tài "Nghiên cứu thiết kế, tổng hợp và đánh giá hoạt tính sinh học các dẫn xuất *para*-aminochalcone" do tác giả Nguyễn Cường Quốc thực hiện từ tháng 10/2023 đến tháng 10/2024. Nhóm tác giả cũng cảm ơn Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ cơ sở vật chất để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] World Health Organization, "Coronavirus Disease (COVID-2019) Situation Reports 176". [Online]. Available: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>. [Accessed Jun. 23, 2024].
- [2] G. M. Morris and M. Lim-Wilby, "Molecular Docking," in *Molecular Modeling of Proteins*, A. Kukol, Ed. Totowa, NJ: Humana Press, 2008, pp. 365-382, doi: 10.1007/978-1-59745-177-2_19.
- [3] J. Fan, A. Fu, and L. Zhang, "Progress in molecular docking," *Quant Biol*, vol. 7, no. 2, pp. 83-89, 2019, doi: 10.1007/s40484-019-0172-y.

- [4] T. B. H. Bui, C. Q. Nguyen, and Q. D. Tran, "Docking-Based Virtual Screening for the Discovery of 1,3,4-Oxadiazoles as Aminoacyl-tRNA Synthetase Inhibitors," *CTU J. Inn. & Sus. Dev.*, vol. 14, no. 2, pp. 83-92, 2022, doi: 10.22144/ctu.jen.2022.021.
- [5] Q. D. Tran *et al.*, "ZIKV Inhibitors Based on Pyrazolo[3,4-d]pyridazine-7-one Core: Rational Design, In Vitro Evaluation, and Theoretical Studies," *ACS Omega*, vol. 8, no. 51, pp. 48994-49008, 2023, doi: 10.1021/acsomega.3c06612.
- [6] Q. D. Tran *et al.*, "Rational design of novel diaryl ether-linked benzimidazole derivatives as potent and selective BACE1 inhibitors," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 698, 2024, Art. no. 149538, doi: 10.1016/j.bbrc.2024.149538.
- [7] C. Q. Nguyen *et al.*, "Structure-base DNA-targeting strategies with chalcone derivatives containing heterocyclic moiety as potential anti-cancer agents," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 59, no. 6, pp. 44-53, 2023, doi: 10.22144/ctujs.2023.213.
- [8] C. Q. Nguyen *et al.*, "Multitargeted molecular docking study of some N-hydroxycinnamamide compounds on ER α , PR, EGFR, and CK2 receptors," *Vietnam Journal of Science and Technology B*, vol. 65, no. 6, pp. 47-51, 2023, doi: 10.31276/VJST.65(6).
- [9] C. Q. Nguyen *et al.*, "Synthesis and evaluation of biological activities of two belinostat analogs bearing fluorine at the CAP," *Science & Technology Development Journal: Natural Sciences*, vol. 7, no. 1, pp. 2538-2547, 2023, doi: 10.32508/stdjns.v7i1.1238.
- [10] S. Dallakyan and A. J. Olson, "Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx," *Chemical Biology: Methods and Protocols*, pp. 243-250, 2015, doi: 10.1007/978-1-4939-2269-7_19.
- [11] Y. M. Báez-Santos, S. E. St. John, and A. D. Mesecar, "The SARS-coronavirus papain-like protease: Structure, function and inhibition by designed antiviral compounds," *Antiviral Research*, vol. 115, pp. 21-38, 2015, doi: 10.1016/j.antiviral.2014.12.015.
- [12] C. Liu *et al.*, "Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases," *ACS Cent. Sci.*, vol. 6, no. 3, pp. 315-331, 2020, doi: 10.1021/acscentsci.0c00272.
- [13] M. Valipour, "Chalcone-amide, a privileged backbone for the design and development of selective SARS-CoV/SARS-CoV-2 papain-like protease inhibitors," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 240, 2022, Art. no. 114572, doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114572.
- [14] K. Ratia *et al.*, "A noncovalent class of papain-like protease/deubiquitinase inhibitors blocks SARS virus replication," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, no. 42, pp. 16119-16124, 2008, doi: 10.1073/pnas.0805240105.
- [15] Z. Shen *et al.*, "Potent, Novel SARS-CoV-2 PLpro Inhibitors Block Viral Replication in Monkey and Human Cell Cultures," *bioRxiv*, 2021, doi: 10.1101/2021.02.13.431008.
- [16] A. Peralta-Garcia *et al.*, "Entrectinib—A SARS-CoV-2 Inhibitor in Human Lung Tissue (HLT) Cells," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 24, 2021, doi: 10.3390/ijms222413592.
- [17] Z. Fu *et al.*, "The complex structure of GRL0617 and SARS-CoV-2 PLpro reveals a hot spot for antiviral drug discovery," *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, p. 488, 2021, doi: 10.1038/s41467-020-20718-8.
- [18] X. Gao *et al.*, "Crystal structure of SARS-CoV-2 papain-like protease," *Acta Pharmaceutica Sinica B*, vol. 11, no. 1, pp. 237-245, 2021, doi: 10.1016/j.apsb.2020.08.014.
- [19] H. Shan *et al.*, "Development of potent and selective inhibitors targeting the papain-like protease of SARS-CoV-2," *Cell chemical biology*, vol. 28, no. 6, pp. 855-865, 2021.
- [20] J. Osipiuk *et al.*, "Structure of papain-like protease from SARS-CoV-2 and its complexes with non-covalent inhibitors," *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, p. 743, 2021, doi: 10.1038/s41467-021-21060-3.
- [21] A. Douangamath *et al.*, "Crystallographic and electrophilic fragment screening of the SARS-CoV-2 main protease," *Nat Commun*, vol. 11, no. 1, p. 5047, 2020, doi: 10.1038/s41467-020-18709-w.