



# SÀNG LỌC *IN SILICO* CÁC PHÂN TỬ NHỎ CÓ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ HOẠT TÍNH INTERLEUKIN-36 $\gamma$

## *IN SILICO* SCREENING SMALL MOLECULES INHIBIT IL-36 $\gamma$

Trịnh Tiến Phát<sup>1,a</sup>, Nguyễn Lê Anh Tuấn<sup>1,b\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược – Trường Đại học Lạc Hồng  
<sup>a</sup>tienphat.work@gmail.com, <sup>b</sup>tuannghuyen@lhu.edu.vn

**TÓM TẮT:** Ức chế hoạt tính IL-36 $\gamma$  là một phương pháp mới trong điều trị các bệnh tự miễn. Trong nghiên cứu này, các mô hình *in silico* để sàng lọc các cấu trúc phân tử nhỏ có khả năng ức chế hoạt tính của IL-36 $\gamma$  được phát triển để thiết kế các loại thuốc mới cho các bệnh tự miễn. Nghiên cứu đã xây dựng mô hình 3D-Pharmacophore và thực hiện quá trình docking trên IL-36 $\gamma$ . Tổng cộng có 21.881.636 chất được sàng lọc qua mô hình *in silico*. Trong đó có 1.561 hợp chất phù hợp với mô hình 3D-Pharmacophore, 1.530 hợp chất docking thành công và 12 hợp chất bước đầu cho thấy có tiềm năng cao trong việc ức chế hoạt động của IL-36 $\gamma$ .

**ABSTRACT:** The development of IL-36 $\gamma$  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-36 $\gamma$  activity are developed to design new medicines for autoimmune diseases. The study built a 3D-pharmacophore models and performed docking process on IL-36 $\gamma$ . Virtual screening from 21.881.636 substances were conducted based on the developed *in silico* models. A total of 1.561 compounds matched the 3D-Pharmacophore models, with 1.530 ligands successfully docked, and 12 compounds initially showing a high potential for inhibiting IL-36 $\gamma$  activity.

**TỪ KHOÁ:** interleukin-36 $\gamma$ , *in silico*, bệnh tự miễn, 3D-Pharmacophore, docking

**KEYWORDS:** interleukin-36 $\gamma$ , *in silico*, autoimmune disease, 3D-Pharmacophore, docking

### 1. GIỚI THIỆU

Bệnh tự miễn là bệnh do sự hình thành các kháng thể kháng lại các thành phần mô cơ quan bao gồm nhân tế bào, bào tương, màng tế bào gây tổn thương các cơ quan theo các cơ chế khác nhau. Bệnh tự miễn chia làm hai nhóm chính gồm bệnh tự miễn đặc hiệu cơ quan và bệnh tự miễn hệ thống. Hiện nay bệnh tự miễn khá phổ biến, được biết đã có hơn 100 loại bệnh tự miễn được tìm thấy. Một số bệnh tự miễn phổ biến được biết như đái tháo đường phụ thuộc insulin, viêm khớp dạng thấp, lupus ban đỏ, viêm tuyến giáp, vẩy nến, đa xơ cứng đã và đang làm suy giảm chất lượng cuộc sống con người và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở một số nước trên thế giới. Theo thống kê của hiệp hội bệnh tự miễn Hoa Kỳ (AARDA), đến tháng 7/2018 có hơn 50 triệu người Mỹ mắc bệnh tự miễn, trong đó tỷ lệ mắc bệnh ở phụ nữ là cao hơn (chiếm khoảng 75%) [1]. Thuốc chống viêm không steroid (NSAID), glucocorticoid, thuốc chống thấp khớp tác dụng chậm (DMARD) được sử dụng trong điều trị các bệnh tự miễn. NSAID và glucocorticoid có hiệu quả trong việc giảm đau và ức chế viêm, trong khi DMARD có khả năng giảm tổn thương mô và cơ quan do phản ứng viêm. Những phương pháp điều trị này thường kháng trị, dễ tái phát sau khi ngưng sử dụng thuốc, có nhiều tác dụng phụ và độc tính. Gần đây, nhiều nghiên cứu đã tìm ra những phương hướng tiếp cận mới nhằm điều trị trực tiếp vào sâu nguyên nhân của các bệnh tự miễn đó là sử dụng các kháng thể đơn dòng như: Risankizumab [2], Infliximab [3], Daclizumab [4]. Điểm thuận lợi của những thuốc kháng thể đơn dòng này là có thể điều trị nguyên nhân của các bệnh tự miễn, tuy nhiên việc phải dùng đường tiêm dẫn đến sự khó tuân thủ của bệnh nhân.

Cytokin đóng một vai trò then chốt trong sinh bệnh học của các bệnh tự miễn. Interleukin-36 $\gamma$  (IL-36 $\gamma$ ) là một cytokin đa chức năng được nghiên cứu và phát hiện ra ở nhiều thành phần trong cơ thể, có vai trò trong điều hòa miễn dịch [5],

[6], [7]. IL-36 $\gamma$  kích thích các con đường gây viêm bằng cách liên kết với thụ thể IL-1RL2 và protein IL-1RAcP dẫn đến sự hoạt hóa của protein kinase hoạt hóa mitogen và dẫn truyền tín hiệu NF-kB. Cụ thể, chúng truyền tín hiệu thông qua protein kinase được hoạt hóa bằng mitogen (MAPK), c-Jun N-terminal kinase (JNK), kinase được điều hòa tín hiệu ngoại bào (ERK) và tăng cường bài tiết các yếu tố tiền viêm bao gồm IL-6 và IL-8 [8].

Hiện nay, vẫn chưa có thuốc phân tử nhỏ nào ức chế Interleukin-36 $\gamma$  trong điều trị các bệnh tự miễn. Vì vậy, việc nghiên cứu để tìm kiếm phân tử nhỏ có khả năng ức chế protein này là cần thiết và mở ra cơ hội điều trị những bệnh viêm và bệnh tự miễn với một cơ chế mới.

### 2. NỘI DUNG

#### 2.1. Phương pháp nghiên cứu

Phân tử nhỏ A-552 ((S)-2-((4-(3-amino-4-methylphenyl)-6-methylpyrimidin-2-yl)oxy)-3-methoxy-3,3-diphenylpropanoic acid) là chất ức chế IL-36 $\gamma$  đã được nghiên cứu và tìm thấy bởi Todorovic và cộng sự. Nghiên cứu cho thấy phân tử nhỏ này làm suy giảm các phản ứng viêm do IL-36 $\gamma$  gây ra ở người trong các mô hình tiền lâm sàng. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên về việc xác định các chất đối kháng phân tử nhỏ cho phức hợp IL-36R/IL-36 $\gamma$  hoạt động trong các mô hình viêm da và đồng thời tạo cơ hội nhằm đến phát triển mục tiêu ức chế đường truyền tín hiệu này để điều trị nhiều chỉ định viêm khác [9].

Cũng theo nghiên cứu này, cho thấy rằng A-552 có điểm số docking là -21,9254 kJ/mol và liên kết trực tiếp với 4 acid amin của IL-36 $\gamma$  đó là Arg121, Lys123, Ser128, Phe163 Đây

Received: April 23<sup>rd</sup>, 2021

Accepted: December 24<sup>th</sup>, 2021

\*Corresponding Author

Email: tuannghuyen@lhu.edu.vn

chính là bốn acid amin quan trọng trong việc xây dựng mô hình 3D-Pharmacophore IL-36 $\gamma$  và mô hình mô tả phân tử docking với các hợp chất phân tử được lấy xuống từ các cơ sở dữ liệu để tìm ra những chất thỏa mô hình có tiềm năng lớn hơn phân tử nhỏ A-552.

Quá trình sàng lọc *in silico* các cấu trúc phân tử nhỏ ức chế hoạt tính interleukin-36 $\gamma$  được thực hiện theo trình tự các bước: Thu thập cơ sở dữ liệu hợp chất; Xây dựng mô hình 3D-Pharmacophore; Xây dựng mô hình mô tả phân tử docking và sàng lọc trên cơ sở dữ liệu. Dựa trên cấu trúc 3D của phức hợp IL-36 $\gamma$  và phân tử A-552 được tải về từ trang web của Protein data Bank với mã 6P9E và các acid amin quan trọng trong tương tác, nghiên cứu xây dựng các mô hình 3D-Pharmacophore cho chất gắn kết trên IL-36 $\gamma$  bằng phần mềm MOE 2015.10 (Molecular Operating Environment) do Chemical Computing Group phát triển [10, 11]. Cấu trúc protein với mã PDB: 6P9E được sử dụng cho mô hình mô tả phân tử 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 bằng phần mềm Sybyl-X 2.0 do Certara phát triển 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 do BioSolveIT GmbH cung cấp 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 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 (CF), Drug Bank Database (DB), Maybridge PPI Library (MAY), Maybridge Fragments Collection (MAY), Maybridge Screening Collection (MAY), Maybridge Screening Fragments Collection (MAY), Traditional Chinese Medicine Database (TCM) và Thư viện ZINC (ZINC) [12, 13, 14, 15, 16]. Quy trình sàng lọc ảo được tiến hành theo các bước như **Hình 1**.



**Hình 1.** Quy trình sàng lọc

quan trọng sẽ được so sánh với phân tử nhỏ A-552 để chọn lọc ra những chất có tiềm năng trong ức chế hoạt tính IL-36 $\gamma$ .

## 2.2. Kết quả và bàn luận

### 2.2.1. Cơ sở dữ liệu thu thập sàng lọc ảo

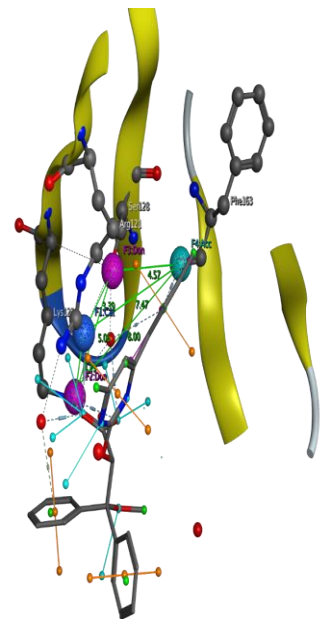
Tổng cộng có 21.881.636 chất được thu thập từ các thư viện CF, DB, MAY, TCM và ZINC vào cơ sở dữ liệu và tiến hành sàng lọc để tìm kiếm các chất ức chế hoạt tính của IL-36 $\gamma$ . Các chất thu thập được sàng lọc theo luật 5-Lipinski và chạy cấu dạng trước khi dùng sàng lọc qua mô hình *in silico*. Kết quả thu thập dữ liệu được trình bày trong **Bảng 1**.

### 2.2.2. Mô hình 3D-Pharmacophore

Dựa vào tương tác giữa IL-36 $\gamma$  và phân tử nhỏ A-552, nghiên cứu đã chọn lọc được 4 acid amin quan trọng để xây dựng mô hình 3D-Pharmacophore, bao gồm Arg121, Lys123, Ser128 và Phe163. Bốn acid amin này được xem là 4 điểm quan trọng trong mô hình 3D-Pharmacophore và mô hình mô tả phân tử docking. Trong đó:

- 2 điểm đại diện cho nhóm liên kết hydro (Don) tương ứng với vị trí nhóm cho hydro trên acid amin Lys123 và Ser128
- 1 điểm đại diện cho nhóm điện tích dương (Cat) tương ứng với vị trí nhóm tích điện dương của acid amin Arg121.
- 1 điểm đại diện cho nhóm nhận liên kết hydro (Acc) tương ứng với vị trí nhóm nhận hydro trong acid amin Phe163.

Mô hình 3D-Pharmacophore được trình bày trong **Hình 2**. **Kết quả sàng lọc qua mô hình 3D-Pharmacophore** Sau khi thu thập cơ sở dữ liệu, nghiên cứu tiến hành sàng lọc qua mô hình 3D-Pharmacophore để tìm kiếm các chất có khả năng ức chế hoạt tính của IL-36 $\gamma$ . Kết quả sàng lọc được trình bày trong **Bảng 1**.



**Hình 2.** Mô hình 3D-Pharmacophore

Cấu dạng gắn kết của một số chất có khả năng gắn kết tốt (thông qua điểm số docking) với IL-36 $\gamma$  tại các acid amin

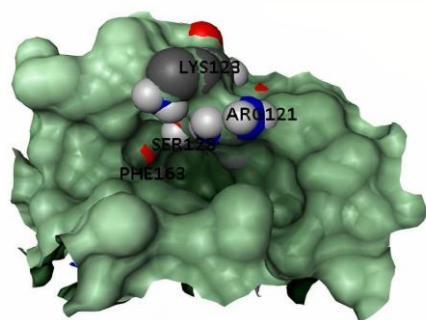
### 2.2.3. Mô hình mô tả phân tử docking

Trên mô hình của IL-36γ, bán kính cần mở là khoảng 6.5Å để có thể bao phủ toàn bộ bề mặt các acid amin quan trọng tham gia vào quá trình docking gắn kết với các hợp chất đã được sàng lọc.

Bề mặt tương tác của IL-36γ là một bề mặt uốn lượn, gồ ghề, những acid amin quan trọng như Ser128 và Phe163 lại nằm ở vị trí lõm của bề mặt, do đó đòi hỏi phối tử phải có cấu dạng tương ứng với bề mặt thì mới có khả năng gắn kết được với IL-36γ. Mô hình mô tả phân tử docking được trình bày trong **Hình 3**.

#### Kết quả sàng lọc qua mô hình mô tả phân tử docking

Nghiên cứu tiên hành docking 1.561 chất thỏa các mô hình 3D-Pharmacophore thu được tổng cộng 1.530 chất thỏa các mô hình mô tả phân tử docking, 31 chất docking không thành công. Kết quả cụ thể được trình bày ở **Bảng 1**.



**Hình 3.** Mô hình mô tả phân tử docking

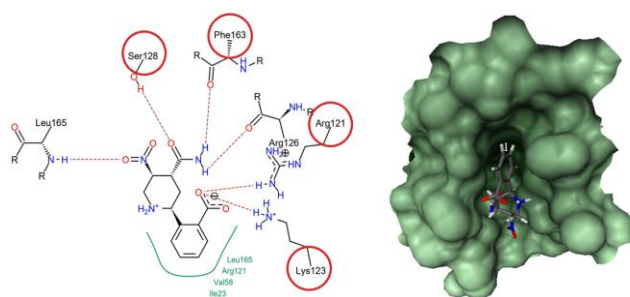
**Bảng 1.** Kết quả sàng lọc

Thư viện	Số lượng hợp chất	Thỏa mô hình 3D-P	Docking thất bại	Docking thành công
CF	11.233	0	0	0
DB	8.811	4	2	2
MAY	148.190	27	12	15
TCM	30.277	18	5	13
ZINC	21.777.093	1.512	12	1.500
<b>Tổng</b>	<b>21.881.636</b>	<b>1.561</b>	<b>31</b>	<b>1.530</b>

Ghi chú: 3D-P: 3D-Pharmacophore

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. Sau quá trình docking, tiến hành với hầu hết các chất có điểm số docking là âm, trong số đó có một số chất tiêu biểu có điểm số docking rất âm và có tiềm năng cao hơn phân tử nhỏ A-552, cho thấy khả năng gắn kết rất tốt với IL-36γ.

Trong số các chất docking thành công, có 12 chất từ thư viện ZINC gắn kết với 4 acid amin quan trọng và có điểm số docking âm hơn A-552 (< -21,9254 kJ/mol) được xem là có khả năng gắn kết lên IL-36γ tốt nhất (**Bảng 2**). Đặc biệt trong số đó ZINC8344411 là chất tiềm năng nhất với điểm số docking là -28,8531 (**Hình 4**).



**Hình 4.** Sự tương tác của ZINC83444114 với acid amin quan trọng và bề mặt gắn kết

**Bảng 2.** Các hợp chất tiềm năng docking thành công vào 4 acid amin quan trọng

STT	Tên hợp chất	Điểm số docking (kJ/mol)	Acid amin quan trọng tương tác
1	ZINC83444114	-28.8531 kJ/mol	Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163, Leu165
2	ZINC94746223	-26.8010 kJ/mol	Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163.
3	ZINC91381190	-25.7138 kJ/mol	Arg121, Lys123, Gly125, Ser128, Phe163, Leu165.
4	ZINC16321091	-24.4818 kJ/mol	Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163.
5	ZINC94559491	-24.4755 kJ/mol	Arg121, Lys123, Ser128, Phe163, Leu165.
6	ZINC39774495	-24.4311 kJ/mol	Thr60, Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163, Leu165.
7	ZINC78727041	-24.2100 kJ/mol	Arg121, Lys123, Ser128, Arg126, Phe163, Leu165.
8	ZINC94746224	-23.6110 kJ/mol	Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163.
9	ZINC94703933	-23.3504 kJ/mol	Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163, Leu165.
10	ZINC16136368	-22.3502 kJ/mol	Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163, Leu165.
11	ZINC63818448	-22.2844 kJ/mol	Arg121, Lys123, Ser128, Phe163, Leu165.
12	ZINC63428203	-22.2095 kJ/mol	Thr60, Arg121, Lys123, Arg126, Ser128, Phe163, Leu165.

### 2.3. Kết luận

Với mục tiêu đề ra, nghiên cứu đã được thực hiện để tìm kiếm các thuốc phân tử nhỏ có thể gắn kết lên IL-36γ để ức

chế hoạt tính của IL-36 $\gamma$ , ngăn không cho tương tác giữa IL-36 $\gamma$  với các protein khác xảy ra. Nghiên cứu đã thu thập 21.881.636 cơ sở dữ liệu cấu trúc phân tử nhỏ từ các thư viện hợp chất khác nhau như CF, DB, MAY, TCM, ZINC. Từ tương tác của các acid amin quan trọng trong cấu trúc protein của IL-36 $\gamma$  với phân tử nhỏ A-552 (mã PDB: 6P9E), nghiên cứu đã xây dựng được mô hình 3D-Pharmacophore với 4 điểm acid amin quan trọng là Arg121, Lys123, Ser128 và Phe163. Nghiên cứu đã xây dựng mô hình mô tả phân tử docking cho chất gắn kết IL-36 $\gamma$ . Nghiên cứu này cũng đã tiến hành sàng lọc qua cơ sở dữ liệu từ các thư viện khác nhau với tổng cộng 21.881.636 hợp chất. Sàng lọc các chất qua mô hình 3D-Pharmacophore, kết quả thu được 1.561 chất tiềm năng gắn kết IL-36 $\gamma$ . Tiếp tục sàng lọc các chất đã thỏa mô hình 3D-Pharmacophore qua mô hình mô tả phân tử docking, kết quả thu được 1.530 chất docking thành công lên IL-36 $\gamma$ . Phân tích tương tác giữa các chất đã docking thành công với các acid amin quan trọng trong tương tác với IL-36 $\gamma$ , kết quả thu được 12 chất từ thư viện ZINC là tiềm năng nhất.

### 3. CẢM ƠN

Xin cảm ơn Khoa Dược – Trường Đại Học Lạc Hồng đã tạo điều kiện, cung cấp kinh phí và hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu này. Cảm ơn Ban biên tập và phản biện Tạp chí Khoa học Lạc Hồng (Journal of science of Lac Hong University) đã góp ý cho bài báo này.

### 4. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] "Autoimmune Disease Statistics, American Autoimmune Related Diseases Association", Available: <https://www.aarda.org/>. Truy cập ngày: 13/06/2020.
- [2] Reich K., Gooderham M., Thaçi D. *et al.*, "Risankizumab compared with adalimumab in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis (IMMvent): a randomised, double-blind, active-comparator-controlled phase 3 trial", *The Lancet*,(2019). **394** (10198), 576-586.
- [3] Atzeni F., Doria A., Carrabba M. *et al.*, "Potential target of infliximab in autoimmune and inflammatory diseases", *Autoimmunity Reviews*,(2007). **6** (8), 529-536.
- [4] Milo R., Stüve O., "Spotlight on daclizumab: its potential in the treatment of multiple sclerosis", *Degenerative neurological and neuromuscular disease*,(2016). **6**, 95-109.
- [5] Ahsan F., Moura-Alves P., Guhlich-Bornhof U. *et al.*, "Role of Interleukin 36 $\gamma$  in Host Defense Against Tuberculosis", *The Journal of Infectious Diseases*,(2016). **214** (3), 464-474.
- [6] Akdis M., Aab A., Altunbulakli C. *et al.*, "Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor  $\beta$ , and TNF- $\alpha$ : Receptors, functions, and roles in diseases", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*,(2016). **138** (4), 984-1010.
- [7] Ryff J.-C., Pestka S. (2013), "Interferons and interleukins", *Pharmaceutical Biotechnology*, Springer, pp: Number of 413-437.
- [8] D'Erme A. M., Wilsmann-Theis D., Wagenpfeil J. *et al.*, "IL-36 $\gamma$  (IL-1F9) Is a Biomarker for Psoriasis Skin Lesions", *Journal of Investigative Dermatology*,(2015). **135** (4), 1025-1032.
- [9] Todorović V., Su Z., Putman C. B. *et al.*, "Small Molecule IL-36 $\gamma$  Antagonist as a Novel therapeutic Approach for plaque psoriasis", *Scientific reports*,(2019). **9** (1), 1-15.
- [10] "The Protein Data Bank (PDB)", Available: <https://www.rcsb.org/>. Truy cập ngày: 17/12/2019.
- [11] "Chemical Computing Group Inc., Molecular Operating Environment (MOE) 2015.10", Available: <https://www.chemcomp.com/>. Truy cập ngày: 18/03/2020.
- [12] "ChemDiv", Available: <http://www.chemdiv.com/>. Truy cập ngày: 17/04/2020.
- [13] "Drug Bank Database", Available: [www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca). Truy cập ngày: 18/02/2020.
- [14] "Maybridge", Available: <http://www.maybridge.com/>. Truy cập ngày: 17/04/2020.
- [15] Calvin Yu-Chian Chen L. o. C. a. S. B., "TCM Database", Available: <http://tcm.cmu.edu.tw/>. Truy cập ngày: 17/06/2020.
- [16] "ZINC Database", Available: <https://zinc.docking.org/>. Truy cập ngày: 17/06/2020.