

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

BỘ Y TẾ



MAI THÀNH TẤN

**SÀNG LỌC *IN SILICO* VÀ *IN VITRO* CÁC
CẤU TRÚC PHÂN TỬ NHỎ CÓ KHẢ NĂNG
TƯƠNG TÁC VỚI INTERLEUKIN-33 VÀ
THỤ THỂ ST2**

Ngành: Hóa Dược

Mã số: 9720203

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

TP. Hồ Chí Minh, năm 2024

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học:

GS. TS. Thái Khắc Minh

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
hợp tại Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh
vào lúc giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

a. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Interleukin (IL)-33 là thành viên thứ 11 của họ cytokin IL-1, đóng vai trò quan trọng trong các phản ứng miễn dịch loại 2. Khi có sự tổn thương mô hoặc tế bào, IL-33 được giải phóng, hoạt hóa và gắn kết đặc hiệu với thụ thể ST2 trên bề mặt các tế bào miễn dịch. Sự gắn kết giữa IL-33 và ST2 là một tương tác protein-protein (PPI). Sự biểu hiện hoặc kích thích quá mức tín hiệu IL-33/ST2 liên quan đến các bệnh viêm như hen suyễn, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính; các bệnh tự miễn như viêm khớp dạng thấp, viêm ruột tự miễn, lupus ban đỏ, xơ cứng bì hệ thống; các bệnh lý thần kinh trung ương như bệnh Alzheimer, đa xơ cứng; các bệnh tim mạch như nhồi máu cơ tim, suy tim và các bệnh lý khác như bệnh mảnh ghép chống chủ. Hiện nay, các bệnh lý kể trên đang gây ra gánh nặng y tế lớn với hàng trăm triệu ca mắc hàng năm. Vì vậy, việc phát triển các tác nhân trị liệu mới và hiệu quả hơn có tính cấp thiết. Trong đó, ức chế tương tác IL-33/ST2 là một trong những hướng nghiên cứu tiềm năng, mở ra cơ hội điều trị các bệnh viêm và tự miễn với một cơ chế mới.

Mặc dù một số kháng thể đơn dòng kháng IL-33 và ST2 đã được thử nghiệm lâm sàng, chúng vẫn là những liệu pháp đắt tiền, phải dùng bằng đường tiêm, khó bảo quản và có thể gây ra các phản ứng phụ trên miễn dịch. Ngược lại, thuốc phân tử nhỏ có các ưu điểm về sinh khả dụng đường uống, chi phí thấp, tính chất được động học dễ điều chỉnh, dễ phân liều và bảo quản. Mặc dù một số hợp chất phân tử nhỏ ức chế IL-33 và ST2 đã được báo

cáo, việc tìm kiếm các hợp chất mới gắn kết ái lực cao và chọn lọc với các mục tiêu này vẫn là một nhu cầu cấp thiết.

Khám phá thuốc mới là một quá trình tiêu tốn nhiều thời gian và chi phí, đặc biệt với những mục tiêu khó khăn như PPI. Với sự phát triển của khoa học máy tính, quá trình này đã được thúc đẩy một cách mạnh mẽ. Dựa trên những tiến bộ đó, đề tài này được thực hiện nhằm sàng lọc các phân tử nhỏ có khả năng tương tác với IL-33 và ST2 bằng các phương pháp *in silico* và *in vitro*.

b. Mục tiêu nghiên cứu

1. Xây dựng cơ sở dữ liệu (CSDL) cấu trúc hóa học định hướng cho nghiên cứu sàng lọc *in silico* chất ức chế PPI.
2. Khảo sát tương tác protein-protein của IL-33/ST2 và xác định các vị trí gắn kết cho phối tử phân tử nhỏ trên mỗi protein bằng các công cụ máy tính.
3. Xây dựng các mô hình sàng lọc *in silico* dựa trên cấu trúc mục tiêu IL-33 và ST2, bao gồm mô hình pharmacophore, gắn kết phân tử, mô phỏng động lực học phân tử (MD) và tính toán năng lượng tự do gắn kết.
4. Xây dựng các mô hình *in silico* dựa trên các phối tử đã biết của IL-33 và ST2, bao gồm truy vấn tương đồng hình dạng phân tử 3 chiều (ROCS), mô hình pharmacophore và mô hình mối liên quan định lượng giữa cấu trúc và tác động (QSAR).
5. Thử nghiệm *in vitro* đánh giá hoạt tính ức chế tín hiệu IL-33/ST2 của các chất được sàng lọc từ nghiên cứu *in silico*.

c. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: cấu trúc tinh thể của IL-33/ST2 (PDB: 4KC3) và các cytokin họ IL-1, các phối tử đã được báo cáo tác động ức chế IL-33/ST2, các CSDL hóa học cho sàng lọc ảo, protein IL-33 và dòng tế bào HEK-Blue IL-33 (HB).

- Phương pháp nghiên cứu: Các phương pháp *in silico* được áp dụng để xây dựng các mô hình sàng lọc ảo qua các thư viện hóa học. Các hợp chất tiềm năng được xác nhận bằng thử nghiệm *in vitro* qua thử nghiệm đánh hiệu lực ức chế tín hiệu IL-33/ST2 trên dòng tế bào HB và thử nghiệm đánh giá gắn kết dựa trên quang phổ huỳnh quang.

d. Những đóng góp mới của đề tài về mặt lý luận và thực tiễn

1. Áp dụng các kỹ thuật *in silico* khác nhau (mô phỏng MD, phân rã năng lượng tự do và quét đột biến alanin) để lập hồ sơ các acid amin điểm nóng trên bề mặt PPI giữa IL-33 và ST2, làm cơ sở cho quá trình thiết kế thuốc dựa trên PPI.

2. Lần đầu tiên báo cáo các vị trí gắn kết phù hợp cho phối tử phân tử nhỏ trên IL-33 và thụ thể ST2. Nổi bật, trên IL-33, một túi ẩn có thể được hình thành tại vị trí 2 của giao diện PPI. Trên ST2, vị trí 1 của giao diện PPI là khoang gắn kết khả dĩ, nhưng một vị trí allosteric ở lân cận có thể cung cấp một túi liên kết ái lực cao với phối tử phân tử nhỏ.

3. Xây dựng được một bộ CSDL hóa học định hướng PPI sẵn sàng cho các dự án sàng lọc ảo trong tương lai.

4. Xây dựng các mô hình pharmacophore cho các vị trí gắn kết trên cả IL-33 và ST2, giúp sàng lọc nhanh chóng qua các thư viện

hóa học lớn. Đồng thời, các mô hình mô phỏng gắn kết phân tử cho IL-33 và ST2 cũng được xây dựng và đánh giá. Từ đó, quy trình sàng lọc ảo dạng phổ biến dựa trên thời gian tính toán được áp dụng, theo thứ tự gồm mô hình pharmacophore, mô phỏng gắn kết phân tử, lập hồ sơ ADMET, mô phỏng MD và tính toán năng lượng tự do gắn kết. Từ đó, các hợp chất gắn kết *in silico* ái lực cao với các protein mục tiêu được tìm kiếm.

5. Thiết lập quy trình thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế tín hiệu IL-33/ST2 trên dòng tế bào HB và đánh giá gắn kết với IL-33 dựa trên quang phổ huỳnh quang trong điều kiện Việt Nam. Từ đó, các hợp chất mới và có hoạt tính đã được xác định.

e. Bố cục của luận án

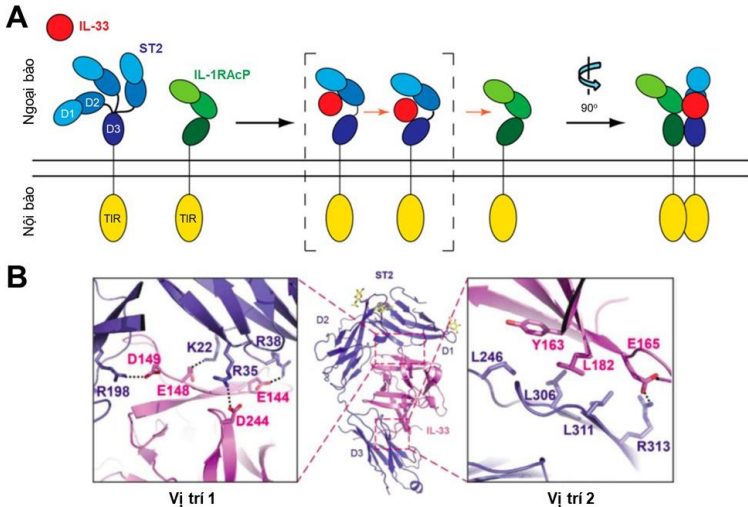
Luận án gồm 151 trang với các phần: Đặt vấn đề: 2 trang; Tổng quan tài liệu: 37 trang; Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 24 trang; Kết quả: 51 trang; Bàn luận: 34 trang; Kết luận và Kiến nghị: 03 trang. Luận án có 12 bảng, 58 hình, sơ đồ, đồ thị, 264 tài liệu tham khảo tiếng Anh và 1 tài liệu tham khảo tiếng Việt.

1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Giới thiệu về IL-33 và thụ thể ST2

IL-33 được phát hiện lần đầu tiên vào năm 2003 và là thành viên mới nhất của họ IL-1. IL-33 liên kết đặc hiệu với thụ thể ST2 biểu hiện trên màng của các tế bào miễn dịch như bạch cầu ưa acid, bạch cầu ưa kiềm, tế bào mast, tế bào TH2, đại thực bào, diệt bào tự nhiên... Phức hợp IL-33/ST2 cần sự hỗ trợ của đồng thụ thể IL-1RAcP để triệu tập MyD88, kích hoạt tín hiệu nội bào

và thúc đẩy sự phóng hạt của tế bào mast cùng sự sản xuất các phân tử gây viêm khác.



Hình 1.5. Sự tương tác của IL-33 với thụ thể ST2. (A) IL-33 liên kết với ST2 và đồng thụ thể IL-1RAcP để tạo thành phức hợp truyền tín hiệu. (B) Hai vị trí tương tác giữa IL-33 và ST2, chủ yếu qua các cầu muối tại vị trí 1 và qua các tương tác kỵ nước tại vị trí 2.

Ở dạng cytokin, IL-33 có khối lượng 18 kDa và chiều dài 159 acid amin (Ser112–Thr270). Miền ngoại bào của thụ thể ST2 gồm 3 miền cấu trúc, với miền D1D2 có tính chất cứng nhờ các cầu nối disulfid và miền D3 có tính linh động. IL-33 và ST2 tương tác tại 2 vị trí riêng biệt (**Hình 1.5A**). Đầu tiên, IL-33 gắn kết với vùng ngoại bào của ST2 tại miền D1D2, được gọi là vị trí 1. Sau đó, ST2 có sự thay đổi về cấu dạng, chủ yếu ở miền D3, để tiếp tục gắn kết với IL-33 tại vị trí 2. Bằng phương pháp đột biến, Liu và cộng sự (2013) đã xác định một số acid amin “điểm nóng” của IL-33 trong tương tác với ST2 gồm Glu144, Glu148,

Asp149, Asp244 tại vị trí 1 và Tyr163, Leu182 và Glu165 tại vị trí 2 (**Hình 1.5B**).

Hiện nay, con đường tín hiệu IL-33/ST2 đã được chứng minh là có liên quan đến các bệnh lý:

- Viêm (hen suyễn, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, ngưng thở khi ngủ, viêm ruột) và dị ứng: sốc phản vệ, dị ứng thức ăn, viêm da cơ địa
- Bệnh tự miễn: viêm khớp dạng thấp, lupus ban đỏ hệ thống, đa xơ cứng, xơ cứng bì hệ thống
- Bệnh thần kinh trung ương (Alzheimer), bệnh tim mạch (suy tim, nhồi máu cơ tim), bệnh mảnh ghép chống chủ.

1.2. Các phương pháp *in silico* trong khám phá thuốc mới

- *Các phương pháp thiết kế thuốc dựa trên cấu trúc mục tiêu*: bao gồm mô hình pharmacophore, mô phỏng gắn kết phân tử và mô phỏng động lực học phân tử. Cả 3 phương pháp này đều có thể áp dụng trong nghiên cứu chất ức chế phân tử nhỏ cho các mục tiêu liên quan PPI.
- *Các phương pháp thiết kế thuốc dựa trên phối tử*: bao gồm mô hình pharmacophore, tìm kiếm tương đồng và mô hình QSAR. Các phương pháp này yêu cầu một tập dữ liệu về các chất có hoạt tính đã biết trên mục tiêu tác động.

1.3. Các phương pháp *in vitro* đánh giá tác động ức chế hoạt tính của IL-33/ST2

- Thử nghiệm đánh giá sự gắn kết với IL-33: nghiên cứu sử dụng phổ cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) của Murphy và cộng sự (2014), Osbourn và cộng sự (2017), Okragly và cộng

sự (2021); sử dụng chuẩn độ nhiệt lượng đẳng nhiệt (ITC) của Holgado và cộng sự (2019); sử dụng phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) của Kim và cộng sự (2016, 2021).

- Thử nghiệm đánh giá sự ức chế cạnh tranh PPI của IL-33 và ST2: thử nghiệm AlphaLISA của Ramadan và cộng sự (2018), Yuan và cộng sự (2022, 2023); thử nghiệm HTRF của Yuan và cộng sự (2022).
- Thử nghiệm ức chế tín hiệu IL-33/ST2 dựa trên tế bào: nghiên cứu sử dụng tế bào HEK-Blue IL-33 của Ramadan và cộng sự (2018), Yuan và cộng sự (2022, 2023); tế bào HMC-1 của Kim và cộng sự (2021).

1.4. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước

1.4.1. Các nghiên cứu trong nước

Protein mIL33R-Fc có tác động ức chế IL-33 ở chuột được tái tổ hợp bởi Nguyễn Thị Thanh Thảo và cộng sự (2015).

1.4.2. Các nghiên cứu trên thế giới

Trên thế giới, hai hướng nghiên cứu chất ức chế IL-33/ST2 bao gồm các chế phẩm sinh học và phân tử nhỏ. Các kháng thể đã được thử nghiệm lâm sàng có tác dụng trung hòa IL-33 bao gồm torudokimab, itepekimab, tozorakimab và etokimab; trung hòa ST2 bao gồm melrilimab và astegolimab.

Đối với phân tử nhỏ, chưa có thuốc nào được chấp thuận hoặc đưa vào thử nghiệm lâm sàng. Trên IL-33, 7c là hợp chất được chứng minh khả năng gắn kết và thể hiện hoạt tính ức chế trên dòng tế bào HMC-1. Trên ST2, nghiên cứu của Yang và Paczesny (2016) liệt kê hơn 60 hợp chất ức chế sự gắn kết của

IL-33 và ST2 xác định bằng phương pháp AlphaLISA và thử nghiệm dựa trên dòng tế bào HEK-Blue IL-33. Hợp chất đại diện là iST2-1 với $IC_{50(AlphaLISA)} = 47,7 \mu M$ và $IC_{50(HB)} = 56,24 \mu M$.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Cấu trúc tinh thể của IL-33 và thụ thể ST2 (PDB: 4KC3) và cấu trúc tinh thể của các cytokin họ IL-1 có liên quan
- Cấu trúc và giá trị hoạt tính của các phối tử đã được báo cáo tác động ức chế IL-33/ST2
- Các CSDL hóa học cho sàng lọc ảo: Ngân hàng thuốc, ZINC, Enamine, ChemDiv, Asinex, NCI Open Database Compounds, Thư viện hợp chất nội bộ
- Protein IL-33 và dòng tế bào HEK-Blue IL-33.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xây dựng cơ sở dữ liệu cho sàng lọc ảo chất ức chế PPI

Các hợp chất trong các thư viện hóa học dùng cho sàng lọc ảo được chuẩn bị bằng phần mềm MOE 2022.02 và OpenEye.

2.2.2. Phương pháp khảo sát PPI của IL-33/ST2 và xác định các vị trí gắn kết cho phối tử phân tử nhỏ

Để xác định các acid amin “điểm nóng” trong PPI giữa IL-33 và ST2, các phương pháp dự đoán sau đây được áp dụng:

- Dự đoán trên cấu trúc “tĩnh” của phức hợp PPI bằng công cụ MOE Protein Contacts và PDBsum.
- Dự đoán bằng phân tích tần suất tương tác và phân rã năng lượng tự do gắn kết sử dụng mô phỏng MD với phần mềm Amber22, MDAnalysis và ProLIF.

- Quét đột biến alanin trên bề mặt PPI và dự đoán đồng thuận độ giảm năng lượng tự do gắn kết bằng các công cụ DrugScorePPI, BUDE Alanine Scan, MutaBind2 và PIIMS.

Để xác định các vị trí gắn kết phù hợp với phối tử phân tử nhỏ, các công cụ sau đây được sử dụng:

- Nhóm công cụ dựa trên cấu trúc “tĩnh” của apoprotein, gồm các công cụ dựa trên hình học (MOE Site Finder, Fpocket, DoGSite và SiteMap), dựa trên năng lượng (AutoSite và FTSite), dựa trên pharmacophore (VolSite) và dựa trên mô hình học máy (P2Rank, DeepSite và PocketMiner).
- Nhóm công cụ dựa trên mô phỏng MD đồng dung môi (CMD), gồm MixMD và CrypticScout.
- Vị trí allosteric được dự đoán bằng Phân tích Chế độ Bình thường (Normal Mode Analysis – NoMA).

2.2.3. Phương pháp xây dựng mô hình in silico dựa trên cấu trúc mục tiêu

Mô hình pharmacophore dựa trên cấu trúc mục tiêu (SB-PH4):

Dựa trên các acid amin điểm nóng trong PPI giữa IL-33 và ST2, các mô hình PH4 được xây dựng bằng công cụ MOE Pharmacophore Editor. Dựa trên phức hợp protein và phối tử ức chế, mô hình PH4 được xây dựng bằng công cụ AutoPH4.

Mô hình gắn kết phân tử: Hộp gắn kết được xác định dựa trên vị trí của các acid amin quan trọng. Quá trình mô phỏng gắn kết phân tử được thực hiện với phần mềm AutoDock Vina 1.1.2 hoặc LeadIT 2.1.8. Bằng cách sàng lọc qua tập có và không có hoạt

tính (hoặc tập decoy), mô hình được đánh giá qua các chỉ số ROC-AUC, $\overline{TG}$ và $EF_{1\%}$.

Mô phỏng MD: Phức hợp protein–phối tử được mô phỏng MD bằng phần mềm Amber22. Phức hợp được solvat hóa trong một hộp nước TIP3P bát diện, trung hòa bằng ion Na^+ hoặc Cl^- (nồng độ muối 0,15 M), sau đó được giảm thiểu năng lượng, gia nhiệt và cân bằng. Độ ổn định của sự gắn kết protein–phối tử được đánh giá qua các biểu đồ RMSD, RMSF, Rg và SASA, năng lượng tự do gắn kết MM-GBSA.

2.2.4. Phương pháp xây dựng mô hình *in silico* dựa trên phối tử

Truy vấn ROCS: được xây dựng dựa trên cấu dạng của chất ức chế 7c của IL-33 bằng phần mềm vROCS.

Mô hình pharmacophore dựa trên phối tử (LB-PH4): được xây dựng dựa trên tập hợp 82 hợp chất ức chế IL-33/ST2, sử dụng công cụ MOE Pharmacophore Elucidator.

Mô hình QSAR: được xây dựng dựa trên tập hợp 82 hợp chất ức chế IL-33/ST2, sử dụng thuật toán bình phương tối thiểu từng phần (PLS).

2.2.5. Dự đoán tính chất dược động học và độc tính

Máy chủ ADMETlab 2.0 để sử dụng lập hồ sơ ADMET cho các hợp chất tiềm năng thu được từ quá trình sàng lọc *in silico*, bao gồm tính chất lý hóa, sự phù hợp với các bộ lọc hóa dược, khả năng hấp thu – phân bố – chuyển hóa – thải trừ và độc tính.

2.2.6. Thử nghiệm *in vitro* đánh giá hoạt tính ức chế tương tác IL-33/ST2

Các hợp chất tiềm năng được thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế tín hiệu IL-33/ST2 trên mô hình tế bào HB. Tế bào đã được chuyển gen biểu hiện thụ thể ST2 xuyên màng và đáp ứng đặc hiệu với IL-33 để sinh ra tín hiệu SEAP. Hoạt tính ức chế của các chất được xác định qua mức giảm của tín hiệu này. Đồng thời, khả năng gắn kết với protein của các chất được đánh giá bằng thử nghiệm dựa trên phương pháp dập tắt huỳnh quang.

3. KẾT QUẢ

3.1. Cơ sở dữ liệu cấu trúc hóa học định hướng cho nghiên cứu sàng lọc *in silico* chất ức chế PPI

Bộ CSDL được xây dựng chứa tổng cộng 2.615.938 hợp chất với hơn 224 triệu cấu dạng 3D. CSDL được chuẩn bị để sẵn sàng sử dụng cho sàng lọc ảo qua mô hình pharmacophore, truy vấn ROCS và gắn kết phân tử. CSDL có thể được truy cập tại địa chỉ <http://github.com/MedChemUMP/Ready-Database-for-PPI-VS>.

3.2. Khảo sát tương tác protein-protein của IL-33/ST2 và xác định các vị trí gắn kết cho phối tử phân tử nhỏ trên mỗi protein bằng các công cụ máy tính

3.2.1. Kết quả khảo sát các điểm nóng của PPI IL-33/ST2

Bảng 3.3 trình bày các acid amin điểm nóng được xác định đồng thuận bằng các phương pháp tính toán khác nhau. Các điểm nóng thực nghiệm (màu đỏ, màu xanh) được xác định, chứng minh tính hiệu quả của các phương pháp *in silico*. Đồng thời, một số điểm nóng mới được phát hiện (màu đen).

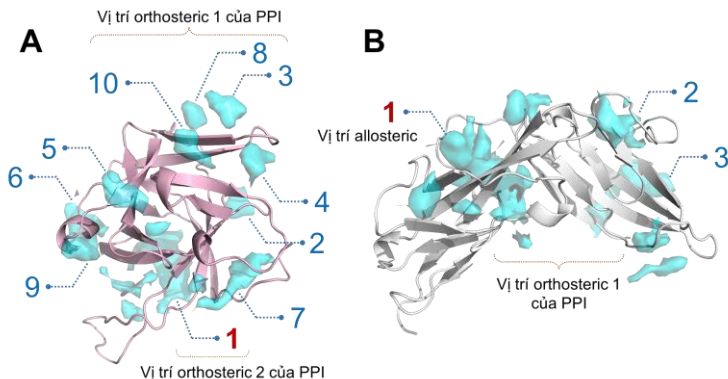
Bảng 3.3. Các acid amin điểm nóng trên bề mặt PPI của IL-33/ST2 được xác định bằng các phương pháp tính toán

Vị trí	Điểm nóng trên IL-33	Điểm nóng trên ST2
1	Tyr146, Asp149 , Lys152, Glu144 , Asp131, His246, Asn245, Glu148 , Glu139	Lys22 , Arg35 , Pro37, Arg38 , Asp115, Tyr119, Tyr132, Thr135 , Arg198
2	Ile119, Tyr122, Tyr163 , Glu165 , Leu182 , Leu220, Asn222, Leu267	Met118, Phe245, Leu250, Leu246 , Leu306 , Leu308, His309, Leu311 , Arg313

■ Các acid amin điểm nóng của IL-33 được xác định bằng thực nghiệm. ■ Các acid amin của ST2 liên kết với acid amin điểm nóng thực nghiệm của IL-33.

3.2.2. Kết quả xác định các vị trí gắn kết trên IL-33 và ST2

Trên IL-33, các công cụ dự đoán “tĩnh” và “động” xác định đồng thuận rằng vị trí orthosteric 2 trên giao diện PPI là vị trí tiềm năng nhất để gắn kết với phối tử phân tử nhỏ (xếp hạng 1 – **Hình 3.4A**). Tại vị trí này, mô phỏng MD dài 5 μ s với chất ức chế **7c** gợi ý về sự hình thành túi ẩn. Vị trí 1 được xếp hạng được MixMD nhận diện gồm 3 túi riêng biệt (xếp hạng 3, 8, 10).

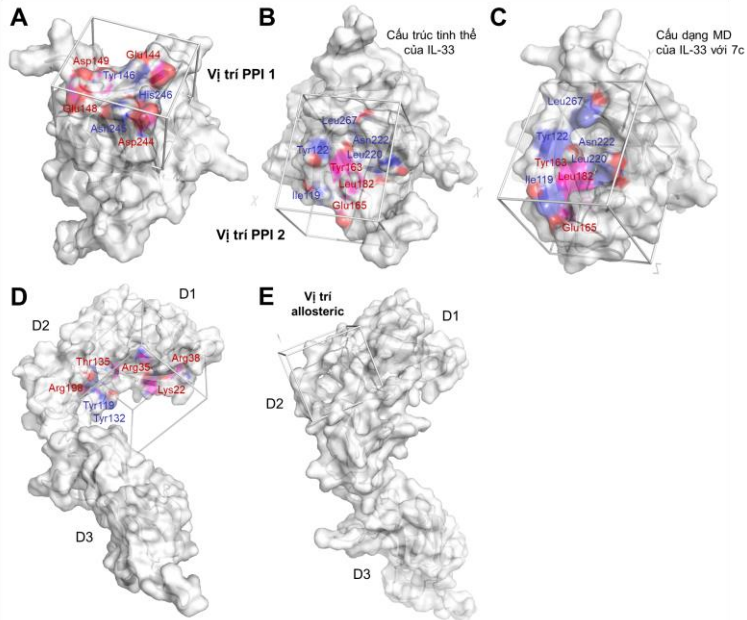


Hình 3.4. Các vị trí gắn kết trên IL-33 (A) và miền D1D2 của thụ thể ST2 (B) được phát hiện và xếp hạng bởi mô phỏng CMD

Trên ST2, các công cụ dự đoán “tĩnh” dự đoán vị trí orthosteric 1 trên giao diện PPI là vị trí tiềm năng nhất, trong khi vị trí 2 không phù hợp để gắn kết với phối tử phân tử nhỏ. Tuy nhiên, mô phỏng MixMD đã phát hiện một túi gắn kết tiềm năng khác ở gần vị trí orthosteric 1 và xếp hạng 1. Phương pháp NoMA đã chứng minh đây có thể là một vị trí allosteric (**Hình 3.4B**).

3.3. Mô hình sàng lọc *in silico* dựa trên cấu trúc mục tiêu IL-33 và ST2

3.3.1. Mô hình gắn kết phân tử



Hình 3.7. Các mô hình gắn kết phân tử trên IL-33 và ST2

Năm mô hình mô phỏng gắn kết phân tử được xây dựng trên IL-33 và ST2 (**Hình 3.7**). Tại các vị trí gắn kết đã biết phối tử

thực nghiệm, mô hình được đánh giá qua phân tích đường cong ROC. Sàng lọc qua tập hoạt tính và tập decoy DUDE-Z, mô hình (B) và (C) có ROC-AUC lần lượt là 0,906 và 0,99; mô hình (D) và (E) có ROC-AUC lần lượt là 0,848 và 0,797.

3.3.2. Mô hình pharmacophore tại vị trí 1 của bề mặt PPI

3.3.2.1. Mô hình pharmacophore cho IL-33 tại vị trí 1

Dựa trên phương pháp “bắt chước” các acid amin điểm nóng của PPI giữa IL-33 và ST2, 2 mô hình pharmacophore được xây dựng để tìm kiếm chất ức chế IL-33, bao gồm PH4-IL33-S1-M1 và PH4-IL33-S1-M2. Sàng lọc thư viện DrugBank và MayBridge qua 2 mô hình, sau đó mô phỏng gắn kết và mô phỏng MD, phân tích tương tác với acid amin điểm nóng và tính toán năng lượng tự do gắn kết, DB00158 và DB00642 là hai hợp chất tiềm năng với $\Delta G_{\text{gắn kết MM-GBSA}}$ là $-49,67$ và $-35,93$ kcal/mol.

3.3.2.2. Mô hình pharmacophore cho ST2 tại vị trí 1

Dựa trên phương pháp “bắt chước” các acid amin điểm nóng của PPI giữa IL-33 và ST2, 2 mô hình pharmacophore được xây dựng để tìm kiếm chất ức chế ST2, bao gồm PH4-ST2-S1-M1 và PH4-ST2-S1-M2. Sàng lọc thư viện ZINC qua 2 mô hình, sau đó mô phỏng gắn kết và mô phỏng MD, phân tích tương tác với acid amin điểm nóng và tính toán năng lượng tự do gắn kết, ZINC08911140, ZINC16933127, ZINC40658091 và ZINC59514725 là những hợp chất gắn kết tiềm năng nhất trên ST2 với $\Delta G_{\text{gắn kết MM-GBSA}}$ là $-21,53$; $-28,93$; $-23,25$ và $-26,84$ kcal/mol, tốt hơn so với hợp chất đối chiếu iST2-1 ($-5,46$ kcal/mol).

3.3.3. Mô hình *pharmacophore* cho IL-33 tại vị trí 2 của PPI

3.3.3.1. Mô hình theo phương pháp “bắt chước” PPI

Mô hình PH4-IL33-S2-M1 được xây dựng bằng cách bắt chước các acid amin điểm nóng của ST2 gồm Leu246, Leu306, Leu311 và Arg313. Mô hình được sàng lọc đồng thời qua các thư viện trực tuyến và CSDL định hướng PPI được xây dựng trong đề tài. Kết quả cho thấy CSDL định hướng PPI cho kết quả điểm số gắn kết (ΔG_{dock}) tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với các CSDL trực tuyến. Các hợp chất có ΔG_{dock} tốt nhất (10%) được lập hồ sơ ADMET và tính điểm lại bằng chương trình HYDE. Năm hợp chất dẫn đầu về ΔG_{dock} và K_i HYDE được chọn để mô phỏng MD và tính toán năng lượng tự do gắn kết. Các hợp chất tiềm năng nhất được xác định là Enamine Z8479543772, Enamine Z5129920608, Enamine Z19188025, ZINC12152030, với $\Delta G_{\text{gắn kết MM-GBSA}}$ lần lượt là -38,4; -41,4; -40,1 và -32,8 kcal/mol.

3.3.3.2. Mô hình dựa trên cấu dạng gắn kết với chất ức chế 7c

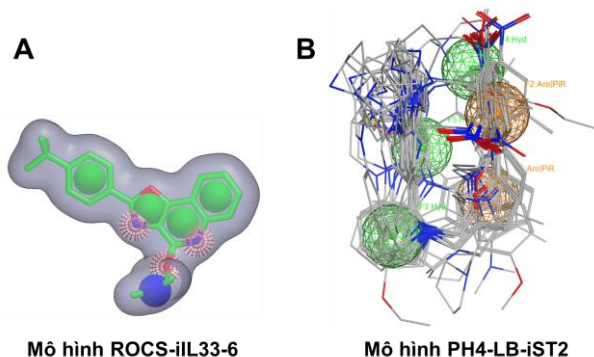
Mô hình PH4-IL33-S2-M2 được xây dựng dựa trên cấu dạng gắn kết của IL-33 và chất ức chế thực nghiệm 7c được lấy mẫu từ mô phỏng MD. Đánh giá trên tập hoạt tính và tập không hoạt tính thực nghiệm cùng tập decoy DeepCoy, mô hình đạt ROC-AUC bằng 0,788 và 1,000. Mô hình được sàng lọc qua các thư viện trực tuyến và CSDL định hướng PPI. Các hợp chất có ΔG_{dock} tốt nhất (~10%) được lập hồ sơ ADMET và tính điểm lại bằng chương trình HYDE. Năm hợp chất dẫn đầu về ΔG_{dock} và K_i HYDE được chọn để mô phỏng MD và tính toán năng lượng tự do gắn kết. Các chất tiềm năng nhất được xác định là ZINC09831173,

ChemDiv G725-1491 và Enamine Z1256575314 với $\Delta G_{\text{gắn kết MM-GBSA}}$ lần lượt $-35,9$; $-31,0$ và $-30,1$ kcal/mol.

3.4. Mô hình *in silico* dựa trên phối tử ức chế IL-33 và ST2

3.4.1. Truy vấn tương đồng hình dạng phân tử 3 chiều

Dựa trên cấu dạng của chất ức chế **7c** của IL-33, 12 truy vấn ROCS được tìm kiếm. Trong đó, truy vấn ROCS-iIL33-6 (**Hình 3.22A**) có kết quả đánh giá tốt nhất dựa trên điểm số tương đồng Tanimoto tổng thể, qua tập DeepCoy), với ROC-AUC = 1,00; $\overline{\text{TG}}$ = 0,98; EF_{1%} = 100.



Hình 3.22. Mô hình pharmacophore PH4-LB-iST2 dựa trên phối tử

Mô hình được ứng dụng để sàng lọc qua CSDL định hướng PPI, 6371 hợp chất thu được với điểm số Tanimoto tổng thể lớn hơn 1,07 được sàng lọc tiếp tục qua mô phỏng gắn kết phân tử. Các hợp chất có ΔG_{dock} tốt nhất ($\sim 10\%$) được lập hồ sơ ADMET và tính điểm lại bằng chương trình HYDE. Năm hợp chất dẫn đầu về ΔG_{dock} và K_{HYDE} được chọn để mô phỏng MD và tính toán năng lượng tự do gắn kết. Các hợp chất tiềm năng nhất được xác định là Asinex BAS-01389088, Asinex BAS-03072524,

Enamine Z1832708609 và Asinex ASN-04481572 với $\Delta G_{\text{gắn kết}}$ MM-GBSA lần lượt là $-33,79$; $-31,65$; $-30,65$ và $-34,66$ kcal/mol.

3.4.2. Mô hình pharmacophore dựa trên phối tử

Dựa trên tập hợp 82 chất ức chế ST2 đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước, các mô hình pharmacophore dựa trên phối tử xây dựng dựa trên 17 chất trong tập huấn luyện và đánh giá dựa trên 65 chất có hoạt tính trong tập kiểm tra. Tổng cộng 74 truy vấn pharmacophore đã được tạo ra dựa trên điểm chung của các chất có hoạt tính mạnh trong tập huấn luyện. Dựa trên điểm số GH, truy vấn thứ 18 có kết quả đánh giá tốt nhất. Mô hình 18 được ký hiệu là PH4-LB-iST2 (**Hình 3.22B**), tiếp tục được đánh giá qua đường cong ROC. Đánh giá trên tập mới như DeepCoy, mô hình đạt $\text{ROC-AUC} = 0,793$, $\overline{\text{TG}} = 0,29$ và $\text{EF}_{1\%} = 18,59$; đánh giá trên tập không hoạt tính thực nghiệm, mô hình đạt $\text{ROC-AUC} = 0,860$, $\overline{\text{TG}} = 0,47$ và $\text{EF}_{1\%} = 24,62$.

3.4.3. Mô hình QSAR

Tập hợp 82 hợp chất được sử dụng để xây dựng và đánh giá mô hình QSAR, với “điểm cuối” dự đoán là hoạt tính ức chế IL-33/ST2 trên dòng tế bào HB ($\text{pIC}_{50(\text{HB})}$). Năm bộ 7 thông số mô tả 2D tốt nhất đã được lựa chọn để xây dựng mô hình QSAR bằng phương pháp bình phương tối thiểu từng phần (PLS). Trong phép phân chia dữ liệu theo phương pháp Kennard-Stone, cả 5 mô hình (**Bảng 3.6**) đều đạt các chỉ số đánh giá ($R^2 = 0,77\text{--}0,81$; $Q_{\text{LOO}}^2 = 0,71\text{--}0,76$; $\text{MAE}_{\text{LOO}} = 0,15\text{--}0,17$; $\overline{r_{\text{m(LOO)}}^2} = 0,60\text{--}0,67$ và ; $\Delta r_{\text{m(LOO)}}^2 = 0,13\text{--}0,18$ trên tập huấn luyện; $Q_{\text{F1}}^2 = 0,78\text{--}0,80$; $\text{MAE} = 0,16\text{--}0,19$; $\overline{r_{\text{m}}}^2 = 0,63\text{--}0,69$; $\Delta r_{\text{m}}^2 = 0,17\text{--}0,20$ và $\text{CCC} =$

0,85–0,88 trên tập kiểm tra). Miền ứng dụng của các mô hình được xác định bằng phương pháp DModX.

Bảng 3.6. Các mô hình QSAR-HB dự đoán hoạt tính ức chế tín hiệu IL-33/ST2 trên dòng tế bào HEK-Blue IL-33

Phương trình PLS (<i>phân chia Kennard-Stone</i>, $n_{train} = 62$, $n_{test} = 16$)	
Mô hình QSAR-HB-M1	$pIC_{50(HB)} = 2,81549 + 0,13958 \times VE3sign_D/Dt + 0,01098 \times P_VSA_s_4 + 0,13028 \times SM14_AEA(dm) - 0,24552 \times CATS2D_09_AA - 0,2938 \times F07[O-O] + 0,00187 \times ATSC7dv - 0,00474 \times ATSC7i$
Mô hình QSAR-HB-M2	$pIC_{50(HB)} = 3,31414 + 0,1673 \times VE3sign_D/Dt - 0,28314 \times VE1_B(p) + 0,01028 \times P_VSA_s_4 + 0,23636 \times SM14_AEA(dm) - 0,10091 \times SsssNH+ - 0,32146 \times CATS2D_09_AA - 0,24679 \times F07[O-O]$
Mô hình QSAR-HB-M3	$pIC_{50(HB)} = 2,12495 + 0,1853 \times VE3sign_D/Dt + 0,00567 \times P_VSA_LogP_2 + 0,01135 \times P_VSA_s_4 - 0,18725 \times CATS2D_09_AA - 0,22452 \times F07[O-O] + 0,0019 \times ATSC7dv + 0,01889 \times TSRW10$
Mô hình QSAR-HB-M4	$pIC_{50(HB)} = -2,49652 + 0,10992 \times VE3sign_D/Dt + 0,01448 \times P_VSA_s_4 + 0,02063 \times SssCH2 - 0,14833 \times SsssNH+ - 0,41443 \times CATS2D_09_AA + 0,34338 \times B06[N-N] + 0,03482 \times AATS8i$
Mô hình QSAR-HB-M5	$pIC_{50(HB)} = 3,18868 + 0,16897 \times VE3sign_D/Dt + 0,01316 \times P_VSA_s_4 + 0,00845 \times P_VSA_ppp_P - 0,21962 \times CATS2D_09_AA - 0,25625 \times F07[O-O] + 0,00204 \times ATSC7dv + 0,01617 \times VR3_Dzs$

Bên cạnh đó, phép phân chia dữ liệu theo thời gian cũng được thực hiện và cho thấy các bộ 7 thông số mô tả phân tử đều cho các mô hình có thể dự đoán tốt trên tập kiểm tra với $Q_{F1}^2 = 0,85-$

0,93 và MAE = 0,13–0,21. Các mô hình QSAR được đưa vào công cụ dự đoán đồng thuận và kết quả cho thấy mô hình CM-0 cho kết quả tốt nhất trong cả hai phép chia dữ liệu ($Q_{F1}^2 = 0,91–0,95$ và MAE = 0,12–0,16).

3.4.4. Sàng lọc ảo thư viện hợp chất nội bộ qua các mô hình

Thư viện hợp chất nội bộ được sàng lọc qua toàn bộ các mô hình *in silico*. Trong đó, 32 hợp chất tiềm năng nhất được lựa chọn để đưa vào thử nghiệm *in vitro* đánh giá tác động ức chế sự tương tác giữa IL-33 và ST2.

3.5. Thử nghiệm *in vitro* đánh giá hoạt tính ức chế IL-33/ST2

3.5.1. Hoạt tính ức chế trên mô hình tế bào HEK-Blue IL-33

Trong 32 hợp chất được khảo sát tác động ức chế IL-33/ST2 trên mô hình tế bào HB, các hợp chất có hoạt tính ức chế tốt hơn đối chứng dương iST2-1 được lựa chọn để tiếp tục xác định giá trị IC_{50} . Quercetin và các dẫn chất gồm T269, T713, T718 và T721 có IC_{50} lần lượt là 80,11; 23,85; 61,16 và 55,91 μM . Một số hợp chất hóa được cho hoạt tính ức chế, gồm T814 (loratadin), T815 (rupatadin) và T821 (montelukast) với IC_{50} lần lượt là 50,26; 48,35 và 46,54 μM . Morpholinoalkoxychalcon cũng là một khung cấu trúc tiềm năng, trong đó hợp chất T651 có IC_{50} là 31,61 μM , so với đối chứng dương iST2-1 có IC_{50} là 48,69 μM .

Qua thử nghiệm MTT, các hợp chất kể trên không gây độc đáng kể đối với tế bào HB (tỉ lệ tế bào sống 86,4–130,8% ở nồng độ 100 μM), chứng tỏ các chất ức chế tín hiệu SEAP do tác động ức chế sự tương tác của IL-33 và ST2.

3.5.2. **Đánh giá khả năng gắn kết của chất ức chế trên IL-33**

Hợp chất T821 được lựa chọn cho thử nghiệm đánh giá gắn kết trên IL-33 sử dụng quang phổ huỳnh quang. Trong đó, cường độ phát xạ huỳnh quang của IL-33 giảm phụ thuộc nồng độ của T821. Biểu đồ Stern-Volmer được lập và cho thấy đây là sự tắt quang tĩnh ($k_q = 1,01 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Biểu đồ Stern-Volmer biến đổi được lập và giúp ước tính tỉ lệ gắn kết IL-33/T821 gần bằng 1:1 với hằng số phân ly $K_d = 1,7 \times 10^{-3} \text{ M}$.

4. BÀN LUẬN

4.1. Cơ sở dữ liệu cấu trúc hóa học định hướng cho nghiên cứu sàng lọc *in silico* chất ức chế PPI

CSDL định hướng PPI được xây dựng trong đề tài giúp khắc phục nhược điểm của các CSDL trực tuyến và có thể áp dụng cho nhiều loại mô hình sàng lọc ảo khác nhau trong tương lai.

4.2. Khảo sát PPI của IL-33/ST2 và xác định các vị trí gắn kết trên mỗi protein bằng các công cụ máy tính

Trong việc xác định các acid amin điểm nóng của PPI IL-33/ST2, cách tiếp cận từng bước theo chi phí tính toán đã được áp dụng. Kết quả thu được phù hợp với thực nghiệm và một số điểm nóng mới được phát hiện. Qua đó, các dự án trên những mục tiêu PPI mới có thể thực hiện theo một quy trình tương tự.

Trong việc xác định vị trí gắn kết, các công cụ chỉ dựa trên cấu trúc tĩnh của protein thể hiện khả năng dự đoán kém trên dạng *apo*. Để vượt qua trở ngại này, phương pháp mô phỏng CMD đã được áp dụng để xét đến tính linh hoạt của protein và lập bản đồ vị trí gắn kết dựa trên sự cạnh tranh của các phân tử thăm dò hữu

cơ với nước trong một môi trường động lực học và theo thời gian. Mô phỏng CMD với phương pháp MixMD và CrypticScout đã thể hiện sự hiệu quả trong việc xác định các vị trí gắn kết của phối tử thực nghiệm trên cấu trúc *apo* của IL-1 β và IL-36 γ . Áp dụng trên IL-33 và ST2, các vị trí gắn kết tiềm năng đã được xác định, gồm vị trí 2 trên IL-33 và vị trí allosteric trên ST2. Từ những vị trí này, các mô hình *in silico* đã được xây dựng và thu được các chất được xác nhận hoạt tính *in vitro*.

4.3. Mô hình sàng lọc *in silico* dựa trên cấu trúc mục tiêu IL-33 và ST2

Các mô hình gắn kết phân tử trên IL-33 và ST2 được đánh giá qua phân tích đường cong ROC, cho thấy năng lực sàng lọc tốt của mô hình khi có thể phân biệt tốt chất có và không có hoạt tính. Chủ yếu dựa trên nguyên tắc “bắt chước” acid amin điểm nóng của PPI, các mô hình pharmacophore đã được xây dựng cho IL-33 và ST2. Từ đó, một số hợp chất từ các thư viện hóa học thương mại đã được xác định. Tuy nhiên, các hợp chất này chưa được thử nghiệm hoạt tính *in vitro* và cần được đánh giá thêm trong các nghiên cứu nối tiếp.

4.4. Mô hình *in silico* dựa trên phối tử ức chế IL-33 và ST2

Truy vấn ROCS-iIL33-6 và mô hình PH4-LB-iST2 được xây dựng trong đề tài đều được đánh giá một cách chặt chẽ. Mô hình QSAR được xây dựng và thẩm định đảm bảo các nguyên tắc của OECD. Sàng lọc qua thư viện nội bộ, một số hợp chất dự đoán từ các mô hình này đã được xác nhận hoạt tính trong thử nghiệm *in vitro*.

4.5. Thử nghiệm *in vitro* đánh giá hoạt tính ức chế IL-33/ST2

4.5.1. Triển vọng của các hợp chất có hoạt tính trong thử nghiệm sử dụng dòng tế bào HEK-Blue IL-33

Trong nghiên cứu này, thử nghiệm dựa trên dòng tế bào HB đã được sử dụng để đánh giá tác động ức chế tín hiệu IL-33/ST2 của các hợp chất được lựa chọn với sự định hướng của các mô hình *in silico*. Ưu điểm của thử nghiệm này là dòng tế bào đã được thiết kế để liên kết “gen báo cáo” SEAP với con đường tín hiệu IL-33/ST2 và không đáp ứng với các loại cytokin khác.

IL-33 được sử dụng trong đề tài là protein có trình tự của người (Ser112–Thr270), được tổng hợp bằng phương pháp tái tổ hợp. Protein thể hiện hoạt tính kích thích tế bào HB sản xuất tín hiệu SEAP phụ thuộc nồng độ.

Hợp chất iST2-1 được sử dụng làm đối chứng dương. Thử nghiệm tác động ức chế phụ thuộc nồng độ trên tế bào HB, iST2-1 cho giá trị $IC_{50} = 48,69 \mu M$, phù hợp với báo cáo của Ramadan và cộng sự ($IC_{50} = 56,42 \mu M$). Qua đó, quy trình thử nghiệm có thể được áp dụng để đánh giá hoạt tính ức chế IL-33/ST2.

Đối với các hợp chất thử nghiệm, 3 hoạt chất hóa được gồm loratadin, rupatadin và montelukast có hoạt tính ức chế tương đương iST2-1. Hoạt tính này góp phần bổ sung vào cơ chế tác động của thuốc và đặt ra hướng “tái mục đích” sử dụng các thuốc này trên lâm sàng. Quercetin chứa một khung cấu trúc tiềm năng khi có các dẫn chất thể hiện hoạt tính ức chế mạnh hơn iST2-1 ở nồng độ $100 \mu M$. Trong đó, T713 là hợp chất tiềm năng nhất với $IC_{50} = 23,85 \mu M$.

4.5.2. Thử nghiệm khảo sát sự gắn kết giữa T821 và IL-33 sử dụng quang phổ huỳnh quang

Do máy quang phổ huỳnh quang Hitachi F7000 sử dụng cuvet dày 1 cm đòi hỏi lượng lớn dung dịch thử, trong khi lượng protein có thể tái tổ hợp còn hạn chế, nên đề tài chỉ mới thu được kết quả đánh giá sự gắn kết của T821 (montelukast) với IL-33. Trong các nghiên cứu tương lai, thử nghiệm này có thể triển khai trên máy quang phổ huỳnh quang có chức năng đọc đĩa 96 giếng nhằm tăng thông lượng sàng lọc và giảm lượng protein cần sử dụng.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Đề tài đã đạt được mục tiêu nghiên cứu đề ra, sàng lọc được một số hợp chất có khả năng ức chế *in silico* và *in vitro* tương tác giữa IL-33 và thụ thể ST2. Cụ thể, 5 nội dung nghiên cứu sau đây đã được hoàn thành:

1. Xây dựng được bộ cơ sở dữ liệu hóa học định hướng cho nghiên cứu chất ức chế PPI.
2. Lập hồ sơ điểm nóng cho PPI giữa IL-33 và ST2 bằng các phương pháp tính toán. Đồng thời, các vị trí gắn kết tiềm năng trên IL-33 và ST2 đã được khảo sát toàn diện và xếp hạng.
3. Xây dựng được các mô hình *in silico* dựa trên cấu trúc mục tiêu: hai mô hình pharmacophore PH4-IL33-S1-M1, PH4-IL33-S1-M2 cho IL-33 tại vị trí 1; hai mô hình pharmacophore PH4-ST2-S1-M1, PH4-ST2-S1-M2 cho thụ thể ST2 tại vị trí 1; hai mô hình PH4-IL33-S2-M1, PH4-IL33-S2-M2 cho IL-33 tại vị trí 2. Các mô hình được sử dụng để sàng lọc qua các cơ sở dữ liệu hóa học lớn. Từ đó, các hợp

chất được tiếp tục được sàng lọc bằng mô hình gắn kết phân tử và mô phỏng MD để xác định các hợp chất tiềm năng nhất. Các hợp chất này đều được lập hồ sơ ADMET bằng các công cụ dự đoán.

4. Xây dựng các mô hình *in silico* dựa trên phối tử: mô hình tương đồng hình dạng phân tử 3 chiều ROCS-iIL33-6 cho chất ức chế IL-33, mô hình pharmacophore PH4-LB-iST2 và mô hình QSAR-HB cho chất ức chế ST2. Các mô hình được ứng dụng trong sàng lọc ảo và thu được các chất tiềm năng.
5. Ứng dụng các mô hình sàng lọc *in silico* trên thư viện hợp chất nội bộ, xác định được các hợp chất có tác động ức chế tương tác giữa IL-33 và ST2 thông qua thử nghiệm *in vitro*.

5.2. Kiến nghị

- Xây dựng các mô hình pharmacophore “động” và gắn kết tập hợp để nâng cao năng lực sàng lọc ảo.
- Khai thác những túi gắn kết còn lại trên IL-33 và ST2 đã được xác định trong đề tài để xây dựng các mô hình *in silico*.
- Mô phỏng gắn kết quy mô lớn (large-scale docking) trên IL-33/ST2 để gia tăng tỉ lệ tìm kiếm các chất gắn kết ái lực cao.
- Thử nghiệm *in vitro* cho các hợp chất “hit” từ các thư viện hóa học thương mại đã được sàng lọc *in silico* trong đề tài.
- Thực hiện thử nghiệm đánh giá khả năng gắn kết trên protein đối với các hợp chất từ thư viện nội bộ đã được xác định hoạt tính trên dòng tế bào HB.
- Thiết kế và tổng hợp các dẫn chất của quercetin, benzo[5,6]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin và morpholinoalkoxy-chalcon với sự định hướng của các mô hình *in silico* và đánh giá hoạt tính ức chế IL-33/ST2 *in vitro*.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Tan Thanh Mai**, Thua-Phong Lam, Long-Hung Dinh Pham, Kim-Hung Nguyen, Quoc-Thai Nguyen, Minh-Tri Le, and Khac-Minh Thai. Toward Unveiling Putative Binding Sites of Interleukin-33: Insights from Mixed-Solvent Molecular Dynamics Simulations of the Interleukin-1 Family. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2024; 128:8362-375.
2. **Tan Thanh Mai**, Phuc Gia Nguyen, Minh-Tri Le, Thanh-Dao Tran, Phuong Nguyen Hoai Huynh, Dieu-Thuong Thi Trinh, Quoc-Thai Nguyen, and Khac-Minh Thai. Discovery of small molecular inhibitors for interleukin-33/ST2 protein–protein interaction: a virtual screening, molecular dynamics simulations and binding free energy calculations. *Molecular Diversity*, 2022; 26(5): 2659-2678.
3. Minh-Tri Le,* **Tan Thanh Mai**,* Phuong Huynh Nguyen Hoai, Thanh-Dao Tran, Khac-Minh Thai, and Quoc-Thai Nguyen. Structure-based discovery of interleukin-33 inhibitors: a pharmacophore modelling, molecular docking, and molecular dynamics simulation approach. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 2020; 31(12):883-904.

*Co-first authors