

Chiết xuất, phân lập andrographolid từ Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) nees) và đánh giá hoạt tính kháng SARS-Cov-2 *in silico*

Nguyễn Hoàng Khánh Linh, Phan Thiện Vy, Nguyễn Dương Châu, Phạm Văn Thuận

Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

nhklinh@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Từ lâu, Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*) được dùng trong dân gian để chữa các bệnh tả, sốt, viêm họng, nhiễm trùng, tiêu chảy... Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập các hợp chất andrographolid từ Xuyên tâm liên và đánh giá khả năng ức chế đối với SARS-Cov-2 trên mô hình *in silico*. Từ phân đoạn ethyl acetat, hai hợp chất tinh khiết, 14-deoxyandrographolid (Ap-2) và andrographolid (Ap-3) đã được phân lập. Mô hình docking phân tử cho thấy hai hợp chất andrographolid này có khả năng gắn kết vào đích tác động M^{pro} của SARS-CoV-2 chủng hoang dại (6LU7) và chủng đột biến Omicron (7TLL) nhưng tác dụng yếu hơn so với chứng dương N3 và Nirmatrevil. Điểm số docking của Ap-2 và Ap-3 vào hai đích tác động dao động từ -12,04 đến -15,65 kJ/mol. Kết quả của nghiên cứu đã cho thấy được vai trò tiềm năng của Xuyên tâm liên trong việc hỗ trợ phòng ngừa và điều trị cho bệnh nhân nhiễm Covid-19.

Nhận 02/06/2023

Được duyệt 23/09/2023

Công bố 01/11/2023

Từ khóa

Andrographis paniculata, Xuyên tâm liên, andrographolid, *in silico*, docking, SARS-CoV-2, M^{pro}

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Cây Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) nees), còn gọi là cây Công cộng, Lãm hạch liên, thuộc họ Ô rô (Acanthaceae). Trong tự nhiên, Xuyên tâm liên có nguồn gốc từ Ấn Độ và Sri Lanka, được di thực và trồng phổ biến ở Nam Á, Đông Nam Á, Việt Nam... Theo Y học cổ truyền, Xuyên tâm liên có vị đắng, tính hàn, có tác dụng thanh nhiệt giải độc, hoạt huyết, tiêu thũng chỉ thống, thường được dùng trị cảm sốt, cúm, trị ho, viêm họng, viêm phổi. Trong cây và lá chứa 2 nhóm hoạt chất chính là diterpen lacton và flavonoid, ngoài ra còn có các acid hữu cơ, tanin, nhựa, đường,... Các dẫn xuất andrographolid trong Xuyên tâm liên đã được chứng minh có hoạt tính kháng virus mạnh chống lại nhiều nhóm virus thuộc các họ khác nhau như cúm A (H1N1, H3N2), viêm gan B (HBV), viêm gan C (HCV), HIV, ... [1-3]. Hơn nữa, các andrographolid ở *A. paniculata* được phát hiện có hoạt

tính điều hòa miễn dịch trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi của người, giúp tăng phản ứng miễn dịch của vật chủ [1]. Do đó, các andrographolid cũng như các dẫn xuất có tác dụng điều hòa miễn dịch và chống virus có thể được sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp như một loại thuốc kháng virus chống lại SARS-CoV-2 [4]. Thiết kế thuốc bằng máy tính là con đường tìm kiếm thuốc có nhiều ưu điểm như tiết kiệm thời gian và chi phí nghiên cứu. Trong ba năm gần đây, có nhiều nghiên cứu *in silico* được thực hiện nhằm tìm kiếm các chất kháng SARS-CoV-2 từ các hợp chất tự nhiên [5-12]. Mục tiêu của nghiên cứu là chiết xuất và phân lập các andrographolid từ Xuyên tâm liên, docking phân tử các chất phân lập được để đánh giá khả năng kháng SARS-CoV-2 trên đích tác động M^{pro} virus Corona mã hóa cho hai cystein protease, cystein protease giống papain (PL^{pro}) và cystein giống chymotrypsin hoặc protease chính (3CL^{pro} hoặc M^{pro}). M^{pro} là một mục tiêu hấp dẫn trong tìm kiếm các thuốc điều trị COVID-19 do vai trò



thiết yếu của nó trong việc xử lý các polyprotein được dịch mã từ RNA của virus.

2 Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Cây Xuyên tâm liên thu mua của Công ty Thảo dược Gia Phát, quận Gò Vấp, TP.HCM. Nguyên liệu được rửa sạch, phơi khô, xay thành bột thô, có độ ẩm khoảng 9,5 %.

Hóa chất, dung môi: *n*-hexan, methanol (MeOH), cloroform (CHCl₃), nước cất, ethyl acetat (EtOAc), ethanol 96 %, silica gel GF254 bản nhôm tráng sẵn (Merck) dùng trong sắc ký lớp mỏng, silica gel (cỡ hạt 40-63 μm của Merck) đạt tiêu chuẩn phân tích.

Thiết bị: cột sắc ký các loại, máy cô quay Rotavapor R-200 (Buchi), đèn UV 2 bước sóng (Vilber Lourmat), bồn siêu âm Sonorex RK-1208H (Bandelin)...

Cấu trúc M^{pro} của SARS-CoV-2: Cấu trúc nhiễu xạ tia X của tinh thể SARS-CoV-2 M^{pro} được sử dụng trong nghiên cứu là 6LU7 và 7TLL được tải về từ ngân hàng protein (<https://www.rcsb.org/>). 6LU7 là cấu trúc M^{pro} trong chủng hoang dại được chụp nhiễu xạ tia X cùng phối tử đồng kết tinh là N3, độ phân giải 2,16 Å. 7TLL là cấu trúc M^{pro} đột biến trong SARS-CoV-2 biến thể Omicron P132H, được chụp nhiễu xạ tia X cùng phối tử đồng kết tinh là Nirmatrelvir, độ phân giải 1,63 Å.

Hai chất được sử dụng làm chứng dương trong mô hình docking là N3 và Nirmatrelvir. N3 là chất ức chế M^{pro} có giá trị hoạt tính là IC₅₀ = 125 μM [13], Nirmatrelvir có giá trị hoạt tính hàng số ức chế M^{pro} là K_i = 0,635 nM [14].

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chiết xuất, phân lập andrographolid trong cây Xuyên tâm liên

2.2.1.1 Chiết xuất, phân lập

Từ 2 kg bột dược liệu được chiết ngấm kiệt với ethanol 96 % ở nhiệt độ phòng, tỉ lệ dược liệu và dung môi là 1:6, chiết 1 lần trong 12 giờ. Dịch chiết được thu hồi dung môi đến cao đặc. Sau đó, cao đặc được pha loãng với nước và lắc phân bố lỏng-lỏng thu được cao EtOAc. Phân lập các hợp chất tinh khiết từ cao EtOAc bằng kỹ thuật sắc ký cột cổ điển, hệ dung môi là CHCl₃ – EtOAc với tỉ lệ EtOAc tăng dần được tiến hành tách thành các phân đoạn (PĐ1-PĐ9). Các tua xuất hiện trong các phân đoạn sau rửa giải được tiến hành lọc, rửa và kết tinh lại trong MeOH.

2.2.1.2 Kiểm tra tinh khiết

Các chất sau kết tinh được kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng. Vết được phát hiện bằng UV 254 nm, 365 nm và thuốc thử vanilin-acid sulfuric (VS).

2.2.1.3 Định danh chất phân lập

Cấu trúc của các chất phân lập được xác định bằng dữ liệu phổ ESI-MS và phổ NMR và so sánh đối chiếu với ngân hàng dữ liệu phổ.

2.2.2 Docking các andrographolid vào M^{pro}

2.2.2.1 Chuẩn bị protein

Protein được chuẩn bị bằng công cụ LigX trong MOE.2015.10. Sau đó, protein được lưu dưới dạng file *.pdb.

2.2.2.2 Xác định khoang gắn kết

Khoang gắn kết được xác định bằng công cụ FlexX trong phần mềm LeadIT 2.0.2. Cấu trúc tinh thể 6LU7 và 7TLL đều có phối tử đồng kết tinh là N3 và Nirmatrelvir. Khoang gắn kết được xác định từ vị trí bán kính 6,5 Å của phối tử đồng kết tinh.

2.2.2.3 Chuẩn bị phối tử

Cấu trúc của hợp chất Ap-2, Ap-3 và hai phối tử đồng kết tinh N3 và Nirmatrelvir được vẽ bằng phần mềm Chemdraw 12.0.2. Sau đó, các hợp chất được tối thiểu hóa năng lượng 2 lần bằng phần mềm Sylbyl 2.0 và lưu dưới dạng *.sdf.

2.2.2.4 Docking

Docking phân tử được thực hiện bằng phần mềm LeadIT 2.0.2, xuất 10 tư thế gắn kết cho mỗi phối tử. Kết quả docking được lưu lại dưới dạng *.sdf.

2.2.2.5 Phân tích kết quả

Điểm số docking (kJ/mol) được đánh giá dựa trên các liên kết tạo thành giữa phối tử và protein bao gồm tương tác ion, liên kết hydro, tương tác van der Waals, liên kết π-π, ... Kết quả docking được phân tích bằng các công cụ *PLIF*, *Surface and Maps*, *Ligand Interaction* tích hợp trong MOE.2015.10. Hình ảnh phân tích tương tác được trích xuất bằng phần mềm Pymol.

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Phân lập và tinh chế

Từ 2 kg bột dược liệu, thu được 19 g cao EtOAc. Sau quá trình phân lập bằng sắc ký cột thu được 300 mg tua vô định hình màu trắng (Ap-2) tại phân đoạn PĐ8, và 470 mg tua tinh thể màu trắng (Ap-3) tại phân đoạn PĐ9. Các phân đoạn còn lại không có hiện tượng kết tinh nên nhóm tác giả tập trung vào 2 phân đoạn 8 và phân đoạn 9 để phân lập và tinh chế.

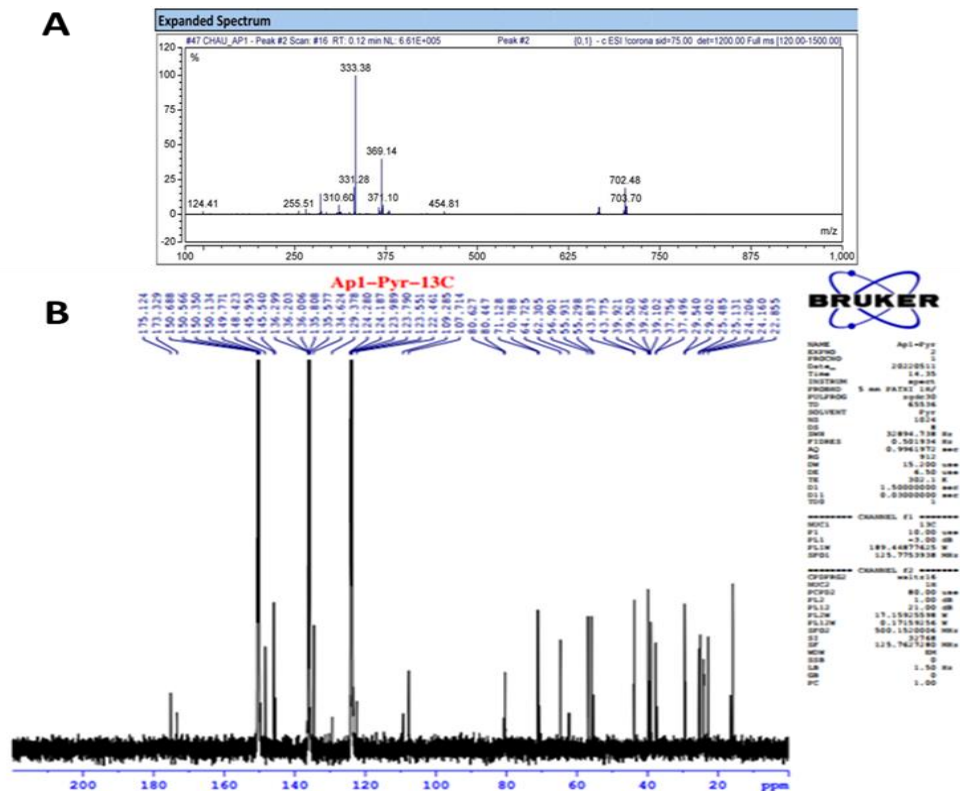


3.2 Xác định cấu trúc Ap-2 và Ap-3

3.2.1 Ap-2

Dữ liệu phổ ESI-MS và dữ liệu phổ NMR của Ap-2 được trình bày trong Hình 1. Phổ ESI-MS của Ap-2 cho

phân mảnh $m/z=333,38 [M - H]^-$ (Hình 1A) tương ứng với khối lượng phân tử thực tế là $M=334,38$ đvC, kết hợp với dữ liệu phổ NMR xác định công thức phân tử của Ap-2 là $C_{20}H_{30}O_4$ ($\Omega=6$).



Hình 1 Dữ liệu phổ (A) ESI-MS và ^{13}C -NMR (B) của Ap-2

Ap-2 là bột vô định hình màu trắng, kém tan trong PE và EtOAc nhưng tan trong $CHCl_3$ và MeOH. Cho vết tắt quang UV 254 nm và 365 nm và cho màu nâu tím với thuốc thử VS. Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện 20 tín hiệu carbon, trong đó có 5 tín hiệu carbon cộng hưởng vùng trường thấp (δC 107,7 - 175,1) và 15 tín hiệu carbon cộng hưởng vùng trường cao (δC 15,9 - 80,5) (Hình 1B). Trong đó, $\delta C = 175,1$ đặc trưng cho nhóm carbonyl, 4 tín hiệu vùng trường thấp đặc trưng cho 2

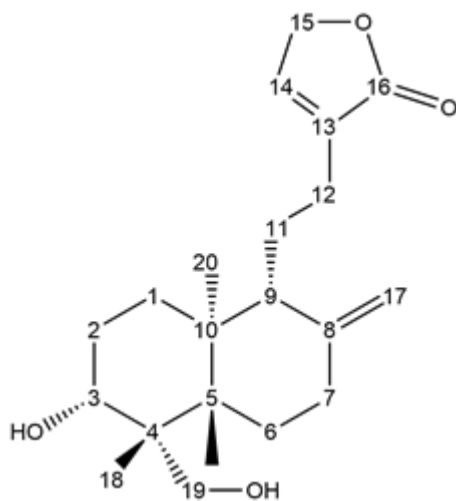
liên kết đôi, 3 tín hiệu carbon trong vùng δC 64,7 – 80,5 đặc trưng cho nhóm $>C-O-R$, 12 tín hiệu carbon trong vùng δC 15,9 - 56,9. Như vậy, xác định Ap-2 là diterpen lacton aglycon có 2 nối đôi. Dữ liệu phổ NMR kết hợp với phổ MS cho thấy Ap-2 tương đồng với 14-deoxyandrographolid. Phổ ^{13}C -NMR của Ap-2 được so sánh với phổ của 14-deoxyandrographolid được công bố trước đây [3]. Kết quả so sánh được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1 So sánh dữ liệu phổ của Ap-2 với 14-deoxyandrographolid, Ap-3 với andrographolid ($^{13}C - \delta ppm$)

C	Ap-2 (500 MHz, Pyridin-d ₅)	14-deoxyandrographolid (150 MHz, Pyridin-d ₅)	Ap-3 (500 MHz, Pyridin-d ₅)	Andrographolid (500 MHz, Pyridin-d ₅)
1	37,8	37,2	37,8	37,1
2	29,5	29,0	29,5	28,8
3	80,5	79,9	80,4	79,7
4	43,8	43,3	43,8	43,1
5	56,0	55,4	55,8	55,1
6	25,1	24,6	24,8	24,2
7	39,1	38,6	38,7	38,0

C	Ap-2 (500 MHz, Pyridin-d5)	14-deoxyandrographolid (150 MHz, Pyridin-d5)	Ap-3 (500 Mhz, Pyridin-d5)	Andrographolid (500 MHz, Pyridin-d5)
8	148,4	147,9	148,5	147,8
9	56,9	56,5	56,9	56,2
10	39,9	39,4	39,7	39,0
11	22,9	22,3	25,5	24,8
12	25,5	25,0	147,5	146,8
13	134,6	134,1	130,7	130,0
14	146,0	145,4	66,5	65,8
15	71,1	70,6	75,9	75,2
16	175,1	174,6	171,2	170,5
17	107,7	107,2	109,3	108,6
18	24,2	23,7	24,2	23,5
19	64,7	64,2	64,7	64,0
20	15,9	15,3	15,7	15,0

Độ dịch chuyển của Ap-2 gần trùng khớp với 14-deoxyandrographolid. Như vậy, dựa vào kết quả của phổ MS, phổ NMR xác định được Ap-2 là 14-deoxyandrographolid (Hình 2).

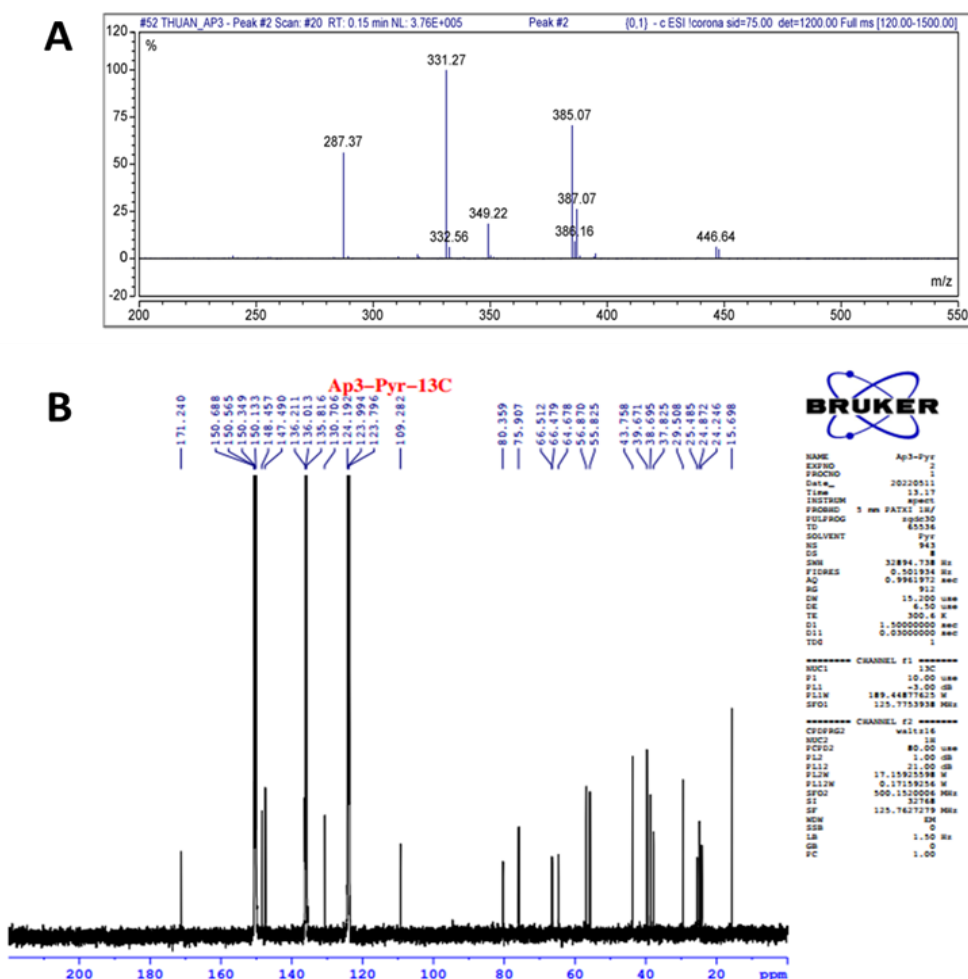


Hình 2 Công thức hóa học của 14-deoxyandrographolid (Ap-2)

3.3.2 Ap-3

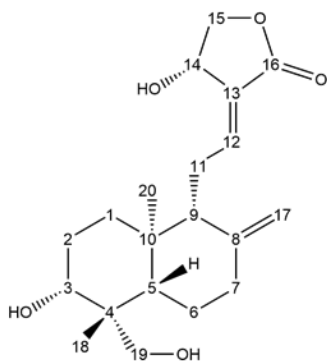
Dữ liệu phổ ESI-MS và dữ liệu phổ NMR của Ap-3 được trình bày trong Hình 3. Phổ ESI-MS của Ap-3 cho phân mảnh m/z 349,22 [M - H]⁻ (Hình 3A) tương ứng với phân tử khối là 350,22 đvC, kết hợp với dữ liệu phổ NMR xác định công thức phân tử của Ap-3 là C₂₀H₃₀O₅ (Ω = 6).

Ap-3 là tinh thể màu trắng, kém tan trong PE, CHCl₃, EtOAc, và MeOH; cho vết tắt quang UV 254 và 365 nm, cho màu tím với thuốc thử VS. Trên phổ ¹³C-NMR xuất hiện 20 tín hiệu carbon, trong đó có 5 tín hiệu carbon cộng hưởng vùng trường thấp (δC 109,3 – 171,3) và 15 tín hiệu carbon cộng hưởng vùng trường cao (δC 15,7 – 80,4) (Hình 3B). Trong đó, với δC = 171,3 đặc trưng cho nhóm carbonyl, 4 tín hiệu vùng trường thấp (δC 109,2 – 148,5) đặc trưng cho 2 liên kết đôi, 5 tín hiệu carbon trong vùng δC 64,7 – 80,4 đặc trưng cho nhóm >C-O-R, 10 tín hiệu trong vùng δC 15,7 – 56,9. Ap-3 được xác định là diterpen lacton aglycon với 2 nối đôi. Dữ liệu phổ NMR và MS cho thấy Ap-3 khá tương đồng với andrographolid. Phổ ¹³C-NMR của Ap-3 được so sánh với phổ của andrographolid được công bố trước đây [15]. Kết quả so sánh được trình bày trong Bảng 1.



Hình 3 Dữ liệu phổ (A) ESI-MS và ^{13}C -NMR (B) của Ap-3

Độ dịch chuyển của Ap-3 gần trùng khớp với andrographolid. Như vậy, dựa vào các kết quả MS, phổ MNR kết luận được Ap-3 là andrographolid (Hình 4).



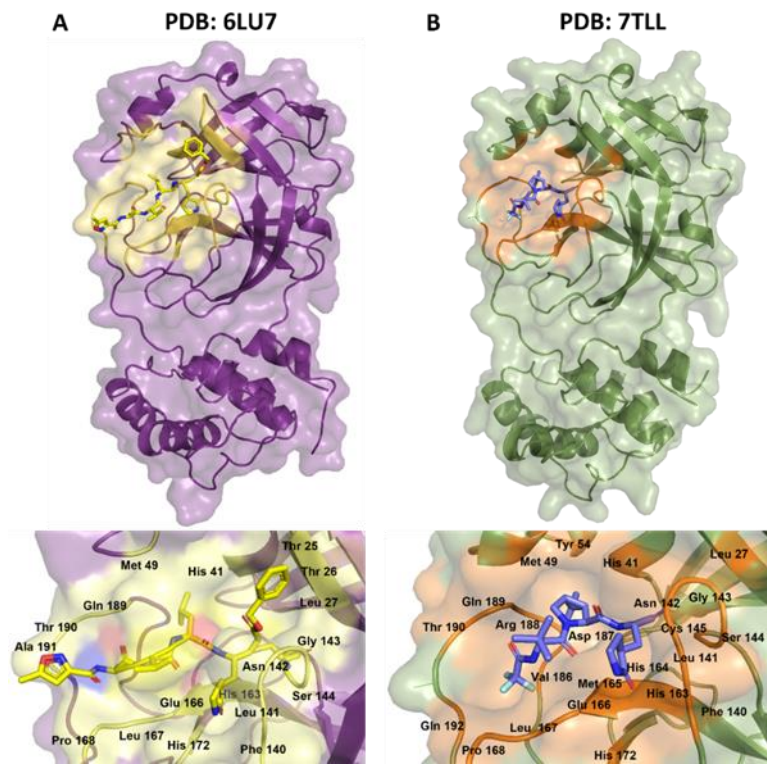
Hình 4 Công thức hóa học của andrographolid (Ap-3)

3.4 Docking 2 chất phân lập từ cây Xuyên tâm liên vào đích tác động M^{pro} của SARS CoV-2

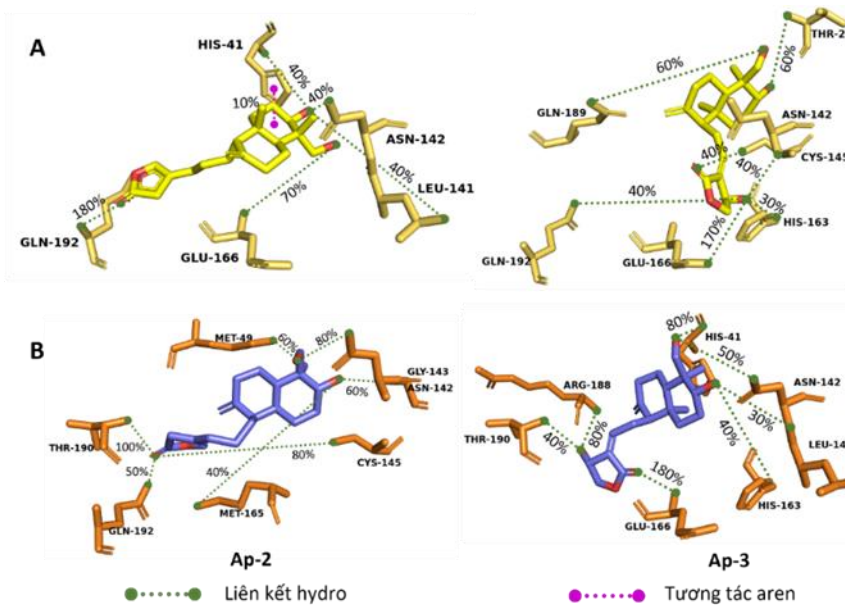
Xác định khoang gắn kết

Khoang gắn kết của hai đích tác động 6LU7 và 7TLL được thể hiện trong Hình 5. Vị trí khoang gắn kết của 6LU7 được mô tả trong Hình 5A, trong đó chứa các acid amin như Thr 25, Thr 26, Phe 140, Asn 142, Gly 143, Cys 145, His 163, His 172 phù hợp với nghiên cứu trước đó [16].

Vị trí khoang gắn kết của protein 7TLL được mô tả trong Hình 5B, trong đó Phe 140, Gly 143, Ser 144, Met 165, Glu 166, Gln 192 được xem là các acid amin quan trọng tham gia vào quá trình gắn kết của phối tử đồng kết tinh theo nghiên cứu vào năm 2022 [17].



Hình 5 Khoảng gắn kết của hai đích tác động M^{pro} (A) 6LU7 và (B) 7TLL. N3: màu vàng, Nirmatrelvir: màu xanh dương



Hình 6 Tương tác giữa Ap-2 (trái), Ap-3 (phải) với các acid amin tại hai đích tác động M^{pro} (A) 6LU7 và (B) 7TLL

Điểm số docking tự thể gắn kết tốt nhất của hai andrographolid và phối tử đồng kết tinh với M^{pro} được thể hiện trong Bảng 2.

Hai hợp chất Ap-2 và Ap-3 đều docking thành công trên 2 đích tác động là 6LU7 và 7TLL với điểm số docking dao động từ -12,04 đến -15,65 kJ/mol (lớn

hơn so với chúng dương N3 và nirmatrelvir). Kết quả này cho thấy hai hợp chất andrographolid có khả năng gắn kết vào đích tác động M^{pro} nhưng kém hơn so với chúng dương.

Các tương tác giữa Ap-2, Ap-3 và các acid amin tại khoảng gắn kết được thể hiện ở Hình 6.

Bảng 2 Điểm số docking của các hai andrographolid và phối tử đồng kết tinh với M^{pro}

Phối tử	Điểm số docking (kJ/mol)	
	6LU7	7TLL
N3	-28,84	-
Nirmatrelvir	-	-26,03
Ap-2	-15,65	-12,04
Ap-3	-15,13	-15,60

Công cụ *PLIF* được sử dụng để thống kê các acid amin tham gia tương tác với phối tử. Kết quả cho thấy Glu

166, Ser 144, Gln 192, Gln 189 và Asn 142 là các acid amin có tần suất gắn kết cao tại khoang gắn kết của 6LU7 và Glu 166, Gly 143, Met 165, Gln 189 và Pro 168 là các acid amin có tần suất gắn kết cao tại khoang gắn kết của 7TLL. Các tương tác chính được tạo thành giữa Ap-2, Ap-3 và M^{pro} chủ yếu là tương tác bề mặt và liên kết hydro. Hợp chất Ap-2 và Ap-3 có tần suất liên kết hydro cao với các acid amin, nhưng thấp hơn so với chứng dương (Bảng 3).

Bảng 3 Tần suất tương tác giữa các phối tử và các acid amin tại khoang gắn kết của hai đích tác động 6LU7 và 7TLL

Đích tác động	N3		Ap-2		Ap-3	
	Acid amin	Tần suất (%)	Acid amin	Tần suất (%)	Acid amin	Tần suất (%)
6LU7	Glu 166	360	Gln 192	180	Glu 166	170
	Ser 144	330	His 41	40	Thr 26	60
	Gln 192	200	Leu 141	40	Gln 189	60
	Gln 189	200	Asn 142	40	Gln 192	40
	His 164	190	His 163	30	Asn 142	40
	Cys 145	80	Arg 188	30	Cys 145	40
	Thr 26	30	Gln 189	20	His 163	30
			His 164	10	Thr 190	20
			Cys 145	10	Leu 167	20
					Met 165	20
				His 164	10	
				Leu 141	10	
7TLL	Nirmatrelvir		Ap-2		Ap-3	
	Glu 166	450	Thr 190	100	Glu 166	180
	Gly 143	200	Cys 145	80	His 41	80
	His 164	200	Asn 142	80	Arg 188	80
	His 163	90	Gly 143	60	Asn 142	50
	Cys 145	60	Met 49	60	His 163	40
	His 163	30	Gln 192	50	Thr 190	40
	Gln 189	30	Met 165	40	Leu 141	30
			Glu 166	20	Gly 143	20
			Gln 189	10	Cys 145	20
				His 164	20	
				Gln 189	20	
				Met 49	20	
				Glu 166	10	

Mặc dù Ap-2 và Ap-3 không có khả năng gắn kết cao như chứng dương vào hai đích tác động M^{pro}, nhưng hai chất andrographolid này tạo được các liên kết hydro và tương tác bề mặt với các acid amin quan trọng tại khoang gắn kết của hai đích tác động giống với kết luận của các nghiên cứu trước [16, 17]. Trong đó, các nhóm chức tham gia tạo liên kết hydro chủ yếu của hai andrographolid là nhóm carbonyl trên vòng lacton 5 cạnh, nhóm hydroxy và hydroxymethyl trên khung decahydronaphtalen. Nhóm hydroxy trên vòng lacton 5

cạnh của Ap-3 làm tăng tương tác với M^{pro} chủng đột biến Omicron.

Kết quả docking phân tử cho thấy hai andrographolid đã phân lập có khả năng ức chế yếu trên M^{pro}, có thể giúp ngăn chặn sự nhân lên của virus SARS-CoV-2 và giảm nguy cơ lây nhiễm. Tuy nhiên, cần phải tiến hành thêm các thử nghiệm và nghiên cứu để xác định khả năng ức chế của hai chất này và đánh giá tính hiệu quả của nó trong việc ngăn chặn sự lây lan của virus SARS-CoV-2.

5 Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu đã phân lập được 2 hợp chất Ap-2 (14-deoxyandrographolid), Ap-3 (andrographolid) với hàm lượng tương ứng là 150 mg/kg dược liệu và 235 mg/1kg dược liệu. Kết quả docking cho thấy Ap-2 và Ap-3 có khả năng gắn kết vào hai đích tác động M^{pro} ở chủng hoang dại và đột biến Omicron, có tiềm năng ức chế yếu M^{pro} ở SARS-CoV-2. Một chất có khả năng ức chế M^{pro} ở SAR-COV-2 có ý nghĩa quan trọng trong việc ngăn chặn sự nhân lên của virus SARS-CoV-2. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng của các dẫn chất andrographolid trong việc điều trị SARS-CoV-2, góp phần làm sáng tỏ cơ chế phân tử tác dụng điều trị SARS-CoV-2 của Xuyên tâm liên. Tuy nhiên, cần phải

tiên hành thêm các thử nghiệm và nghiên cứu để khẳng định khả năng ức chế virus của hai chất này.

Ap-2 và Ap-3 đã phân lập được có thể tiến hành docking phân tử trên các đích tác động khác của SARS-CoV-2 như papain-like protease PL^{pro}, RdRp, endoribonuclease Nsp15, Nsp13 để đánh giá thêm về tác dụng kháng virus. Bên cạnh đó, các hợp chất andrographolid có thể tiến hành phân lập trên quy mô lớn để bán tổng hợp những hợp chất có tác dụng kháng virus tốt hơn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.117/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Murugan N. A., Pandian C. J., Jeyakanthan J. (2021). Computational investigation on Andrographis paniculata phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (12), 4415-4426.
2. Rashid P. T., Ahmed M., Rahaman M. M., Muhit M. A. (2018). 14-Deoxyandrographolide isolated from *Andrographis paniculata* (Burm. f) Nees growing in Bangladesh and its antimicrobial properties. *Dhaka Univ J Pharm Sci*, 17 (2), 265-267.
3. Chen L.-X., Zhuang Y.-L., Shen L., et al. (2011). Microbial transformation of 14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide and 14-deoxyandrographolide and inhibitory effects on nitric oxide production of the transformation products. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 72 (3-4), 248-255.
4. Samad A., Ahammad F., Nain Z., et al. (2022). Designing a multi-epitope vaccine against SARS-CoV-2: an immunoinformatics approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40 (1), 14-30.
5. Selvaraj C., Dinesh D. C., Panwar U., et al. (2021). Structure-based virtual screening and molecular dynamics simulation of SARS-CoV-2 Guanine-N7 methyltransferase (nsp14) for identifying antiviral inhibitors against COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (13), 4582-4593.
6. Das S., Sarmah S., Lyndem S., Singha Roy A. (2021). An investigation into the identification of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease using molecular docking study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (9), 3347-3357.
7. Gurung A. B., Ali M. A., Lee J., Farah M. A., Al-Anazi K. M. (2020). Unravelling lead antiviral phytochemicals for the inhibition of SARS-CoV-2 Mpro enzyme through in silico approach. *Life sciences*, 255, 117831.
8. Joshi R. S., Jagdale S. S., Bansode S. B., et al. (2021). Discovery of potential multi-target-directed ligands by targeting host-specific SARS-CoV-2 structurally conserved main protease. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (9), 3099-3114.
9. Wahedi H. M., Ahmad S., Abbasi S. W. (2021). Stilbene-based natural compounds as promising drug candidates against COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (9), 3225-3234.

10. Mouffouk C., Mouffouk S., Mouffouk S., Hambaba L., Haba H. (2021). Flavonols as potential antiviral drugs targeting SARS-CoV-2 proteases (3CLpro and PLpro), spike protein, RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and angiotensin-converting enzyme II receptor (*ACE2*). *European journal of pharmacology*, 891, 173759.
11. Umesh, Kundu D., Selvaraj C., Singh S. K., Dubey V. K. (2021). Identification of new anti-nCoV drug chemical compounds from Indian spices exploiting SARS-CoV-2 main protease as target. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (9), 3428-3434.
12. Enmozhi S. K., Raja K., Sebastine I., Joseph J. (2021). Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: an in silico approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39 (9), 3092-3098.
13. Jin Z., Du X., Xu Y., et al. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 582 (7811), 289-293.
14. Greasley S. E., Noell S., Plotnikova O., et al. (2022). Structural basis for the in vitro efficacy of nirmatrelvir against SARS-CoV-2 variants. *Journal of Biological Chemistry*, 298 (6).
15. Sun X., Yan H., Zhang Y., et al. (2019). Preparative separation of diterpene lactones and flavones from *andrographis paniculate* using off-line two-dimensional high-speed counter-current chromatography. *Molecules*, 24 (3), 620.
16. Khaerunnisa S., Kurniawan H., Awaluddin R., Suhartati S., Soetjipto S. (2020). Potential inhibitor of COVID-19 main protease (Mpro) from several medicinal plant compounds by molecular docking study. *Preprints*, 2020, 2020030226.
17. Padhi A. K., Tripathi T. (2022). Hotspot residues and resistance mutations in the nirmatrelvir-binding site of SARS-CoV-2 main protease: Design, identification, and correlation with globally circulating viral genomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 629, 54-60.

Extract and isolate of andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees and evaluation of activity against SARS-CoV-2 in silico

Nguyen Hoang Khanh Linh, Phan Thien Vy, Nguyen Duong Chau, Pham Van Thuan
Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University
nhklinh@ntt.edu.vn

Abstract *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees (Acanthaceae) has been used by folk to treat cholera, fever, sore throat, infections, diarrhea... From the ethyl acetate fraction, two pure compounds, 14-deoxyandrographolide (Ap-2) and andrographolide (Ap-3) have been isolated. Molecular docking model showed that these two andrographolide compounds are able to bind to the Mpro target of SARS-CoV-2 wild strain (6LU7) and Omicron mutant strain (7TLL), the effect is weaker than the control. positive N3 and Nirmatrelvir. The docking scores of Ap-2 and Ap-3 into the two targets ranged from -12.04 to -15.65 kJ/mol. The present study has performed the isolation and structural identification of two diterpene lactones and evaluated the in silico anti-SARS-Cov-2 activity of these two compounds.

Keywords *Andrographis paniculata*, andrographolide, docking, in silico, SARS-CoV-2, M^{PRO}

