



Sàng lọc các hợp chất thiên nhiên có nguồn gốc từ dược liệu Việt Nam có tác dụng ức chế Dipeptidyl Peptidase IV định hướng phòng và điều trị đái tháo đường type II bằng phương pháp *In Silico*

SCREENING VIETNAMESE PLANTS-DERIVED NATURAL COMPOUNDS AS DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV INHIBITORS FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF TYPE II DIABETES USING IN SILICO METHODS

Nguyễn Thị Vân Anh, Phạm Thế Hải

Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

TÓM TẮT

Mục tiêu: Sàng lọc các hợp chất thiên nhiên từ cây thuốc Việt Nam có tác dụng ức chế dipeptidyl peptidase IV (DPP4) hướng điều trị đái tháo đường type 2 bằng mô hình in silico.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Các hợp chất thiên nhiên từ dược liệu Việt Nam được sàng lọc tác dụng trên đích phân tử DPP4 bằng phương pháp docking phân tử, sử dụng phần mềm Autodock vina 1.2.0 và ICM pro-3.8. Đồng thời, phương pháp hóa tính toán được sử dụng để dự đoán các thông số dược động học và độc tính của các hợp chất tiềm năng.

Kết quả: Nghiên cứu đã chỉ ra 11 hợp chất tiềm năng có tác dụng trên đích phân tử DPP4. Trong đó, có 4 hợp chất flavonoid có năng lượng liên kết mạnh nhất với đích tác dụng là eriodictyol (-23,31 kcal/mol), luteolin (-23,71 kcal/mol), cirsimaritin (-23,47 kcal/mol) và naringenin (-27,81 kcal/mol). Bốn chất này được dự đoán là có tính thấm và độ tan kém, thải trừ qua nước tiểu > 70%, có khả năng ức chế CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9 và không có độc tính.

Kết luận: 11 hợp chất thiên nhiên từ dược liệu Việt Nam đã được dự đoán là có tác dụng tốt nhất trên đích DPP4; trong đó, 4 hợp chất flavonoid (eriodictyol, luteolin, cirsimaritin, naringenin) là tiềm năng nhất. Các nghiên cứu thực nghiệm cần được tiến hành để nghiên cứu sâu hơn tác dụng ức chế DPP4 của các hợp chất này cũng như định hướng phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị đái tháo đường trong tương lai.

Từ khóa: Đái tháo đường, Docking phân tử, Dipeptidyl peptidase IV, Hợp chất thiên nhiên, In silico.

SUMMARY

Objective: To screen Vietnamese medicinal plants-derived compounds as dipeptidyl peptidase (DPP4) inhibitors with promising anti-diabetic treatment effect by in silico method.

Subjects and methods: Vietnamese medicinal plants-derived compounds were screened for the inhibiting effect on DPP4 by molecular docking methods using Autodock vina 1.2.0 and ICM pro 3.8 softwares. Pharmacokinetic and toxic properties were then examined for potential active compounds.

Results: This study showed that 11 potential natural compounds were able to inhibit DPP4. Among them, 4 compounds were the best inhibitors, including eriodictyol (-23,31 kCal/mol), luteolin (-23,71

Tác giả liên hệ: Phạm Thế Hải

Điện thoại: 0966923117

Email: hpham.phd@gmail.com

Mã DOI: <https://doi.org/10.60117/vjmap.v55i2.277>

Ngày nhận bài: 17/03/2024

Ngày phản biện: 16/05/2024

Ngày chấp nhận đăng: 26/07/2024



kCal/mol), cirsimaritin (-23,47 kCal/mol) and naringenin (-27,81 kCal/mol). These four compounds showed poor permeability and solubility, were excreted in urine (> 70%), were able to inhibit CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9 and had no toxicity on organs.

Conclusion: From the database of Vietnamese medicinal plants-derived compounds, 11 compounds were predicted to have good interactions with the DPP4 target. Among them, there are 4 flavonoid compounds (eriodictyol, luteolin, naringenin and cirsimaritin) showed the most potential on the molecular target of DPP4. Therefore, experimental studies need to be conducted to further investigate the inhibitory effects of these compounds against DPP4 for the treatment and prevention of type II diabetes.

Keywords: Diabetes, Molecular docking, Dipeptidyl peptidase IV, Natural compounds, In silico.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường type 2 (ĐTĐ2) là bệnh lý mạn tính với nhiều biến chứng nguy hiểm. Mặc dù nhiều liệu pháp mới điều trị ĐTĐ2 đã ra đời nhưng vẫn tồn tại nhiều hạn chế lớn về hiệu quả và độc tính. Tính phức tạp của cơ chế phân tử của bệnh và tương quan thấp giữa các mô hình tế bào (*in vitro*), mô hình động vật (*in vivo*) với trên cơ thể người (*in humano*) trong giai đoạn sớm của sàng lọc hợp chất dẫn đường là những thách thức lớn trong quá trình nghiên cứu thuốc mới điều trị ĐTĐ2 [1]. Nhiều nhóm thuốc điều trị ĐTĐ2 đã được phát triển và sử dụng rộng rãi trong lâm sàng như insulin, các biguanid, sulfonylurea, thiazolidinedione (TZD), meglitinide, chất ức chế α -glucosidase hay dipeptidyl peptidase IV (DPP4)... Trong đó, DPP4 là enzym có tác dụng bất hoạt và phân hủy incretin, một hormon kích thích tụy tiết insulin từ đó làm hạ glucose máu trong cơ thể. Vì vậy, ức chế enzym này sẽ làm tăng nồng độ và kéo dài thời gian tác dụng của incretin, từ đó làm tăng tiết insulin và giảm tiết glucagon, dẫn đến giảm glucose máu [2]. Trong các thuốc mới phát triển, nhiều hoạt chất được tìm thấy thông qua quá trình thiết kế và sàng lọc hợp lý với sự hỗ trợ của các mô hình máy tính (*in silico*), đặc biệt là các mô hình liên quan định lượng giữa cấu trúc và hoạt tính sinh học (QSAR) và/hoặc mô phỏng protein docking với lợi thế về thời gian và chi phí. Protein docking là một phương pháp mô phỏng dựa trên tối ưu hóa, tìm vị trí và cấu hình phù hợp nhất của một cơ chất gắn kết lên protein [3]. Hiện nay protein docking được xem là phương pháp sàng lọc phổ biến

nhất trong nghiên cứu dược liệu vì các hợp chất thiên nhiên thường có tác dụng đa đích, đồng thời có cấu trúc đặc thù, do đó mối liên quan cấu trúc-tác dụng thường không đồng nhất.

Nước ta có nguồn dược liệu rất phong phú, nhiều cây thuốc đã được sử dụng phổ biến trong dân gian để điều trị ĐTĐ2 như gấc, giảo cổ lam, thổ phục linh, với hàng ngàn hoạt chất đã được xác định và phân lập từ các cây dược liệu nêu trên và là nguyên liệu quý giá cho các nghiên cứu sàng lọc tìm kiếm các hợp chất dẫn đường có tác dụng tốt trong kiểm soát đường huyết ở bệnh nhân ĐTĐ2. Để góp phần tìm kiếm các chất có hoạt tính tốt phù hợp phát triển thành thuốc điều trị ĐTĐ2, chúng tôi đã tiến hành sàng lọc một thư viện các hợp chất thiên nhiên từ dược liệu Việt Nam có tác dụng ức chế DPP4 sử dụng phương pháp mô phỏng protein docking. Thông qua mô hình này, các hợp chất thiên nhiên có thể được đánh giá khả năng tương tác với đích cũng như so sánh hoạt tính một cách gián tiếp thông qua dự đoán mức năng lượng tương tác (dG, kcal/mol) trong quá trình gắn đích của chúng.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Cơ sở dữ liệu (CSDL) dùng để sàng lọc:

CSDL gồm 1367 hợp chất có nguồn gốc từ 311 loài thực vật và nấm sinh trưởng trên lãnh thổ Việt Nam được cung cấp bởi Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (INPC), Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST). Danh mục này được tập hợp từ 418 bài báo khoa học



về dược liệu Việt Nam công bố trong khoảng thời gian 1992-2016 [4]. Mỗi hợp chất được đặc trưng bởi các trường thông tin: tên thông thường, tên IUPAC, công thức hóa học, định dạng biểu diễn dòng (SMILES, InChi, InChiKey), phân nhóm cấu trúc, nguồn gốc dược liệu, các thông số hóa lý tương ứng với Quy tắc 5 của Lipinski và các tài liệu tham khảo gốc.

Phương tiện tính toán:

Hệ thống tính toán hiệu năng cao tại Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội (USTH), VAST gồm 14 máy trạm Sikmatek có cấu hình: Core i7-12700K (12 nhân 20 luồng), RAM: 32GB DDR4, VGA: Nvidia RTX2060 12GB. Các phần

mềm được sử dụng trong nghiên cứu gồm có: Hyperchem 8.0.1, Open Babel, MGLtools 1.5.7, Autodock vina 1.2.0, Discovery Studio Visualizer 2016, các công cụ tính toán tham số phân tử: Volsurf+, ADMELab3.0 và một số ứng dụng phụ trợ khác.

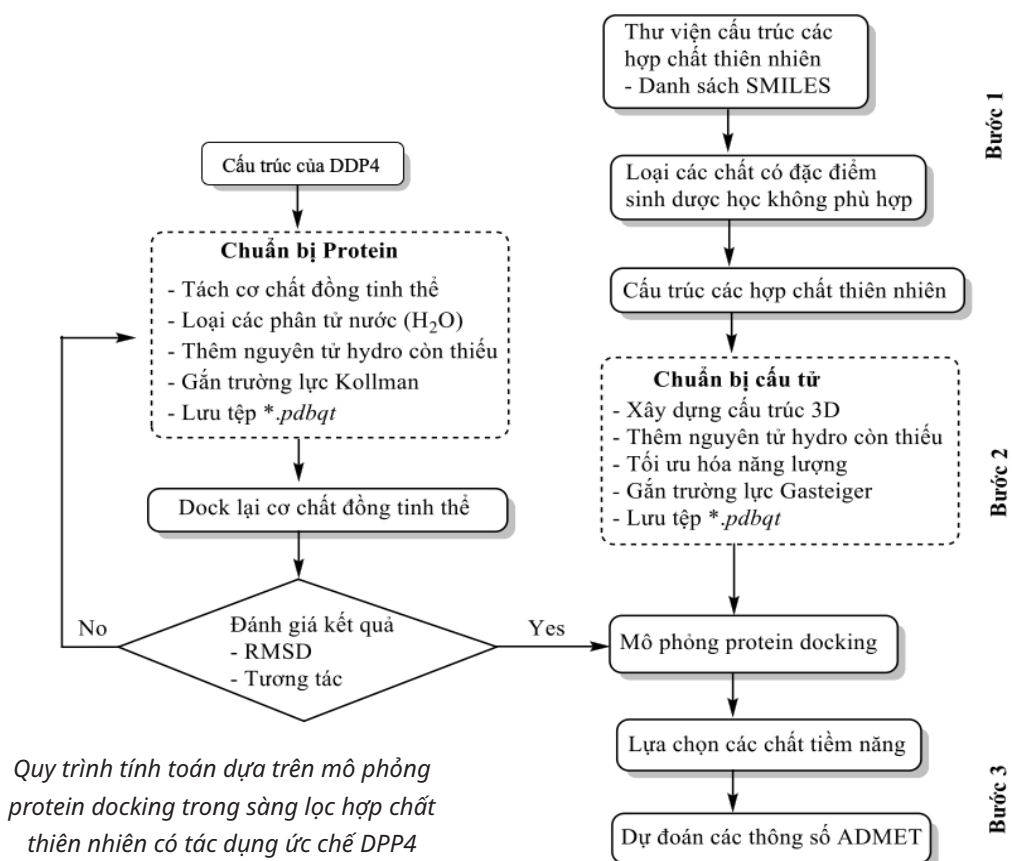
Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại USTH trong khoảng thời gian từ tháng 09/2023 đến 01/2024.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu:

Phương pháp sàng lọc ảo dựa trên mô phỏng protein docking được thực hiện theo quy trình được mô tả dưới đây:



Cỡ mẫu và phương pháp tiến hành:

Quy trình sàng lọc các hợp chất thiên nhiên được tiến hành theo 3 bước, với cỡ mẫu và phương pháp như sau:

Bước 1- Tiền sàng lọc: Từ CSDL 1376 hợp chất thiên nhiên, sử dụng phần mềm Volsurf+ để tính

toán các thông số cấu trúc và hóa lý dựa trên mô tả cấu trúc dạng chuỗi SMILES, bao gồm khối lượng phân tử (MW, g/mol), hệ số phân bố dầu/nước (clogP), số trung tâm cho liên kết hydro, chủ yếu là NH và OH (Hdon), số trung tâm nhận liên kết hydro, chủ yếu là N, O (Hacc), số liên kết quay được (Rot),



diện tích bề mặt phân tử phân cực topo (TPSA, Å²), số lượng nhân thơm (nRing), số lượng nguyên tử carbon (nC), số lượng dị nguyên tử (nHet), điểm sinh khả dụng (F-score). Tiêu chí sàng lọc, dựa

trên các quy tắc giống thuốc: Lipinski, Veber, Egan, Muegge (Bảng 1) [5]. Mỗi quy tắc không được vi phạm quá 01 tiêu chí. Ngoài ra, các hợp chất có điểm số sinh khả dụng F-score <0,55 cũng bị loại.

Tiêu chí đánh giá tính giống thuốc và sinh dược học của các chất sàng lọc

Quy tắc 5 Lipinski	Quy tắc Veber	Quy tắc Egan	Quy tắc Muegge	Điểm sinh khả dụng
MW ≤ 500; clogP ≤ 4,15; Hdon ≤ 5; Hacc ≤ 10.	Rot ≤ 10; TPSA ≤ 140.	clogP ≤ 5,88; TPSA ≤ 131,6.	200 ≤ MW ≤ 600; -2 ≤ clogP ≤ 5; TPSA ≤ 150; nRing ≤ 7; nC > 4; nHet > 1; Rot ≤ 15; Hdon ≤ 5; Hacc ≤ 10.	F-score ≤ 0,55

Bước 2 - Sàng lọc docking:

Các bước tiến hành và tiêu chí lựa chọn:

- Chuẩn bị protein: Cấu trúc tinh thể tia X của DPP4 (mã PDB: 1X70) được tải về từ ngân hàng dữ liệu protein, và được xử lý trước khi sàng lọc [6]. Các cấu trúc này được phân tích về chất lượng độ phân giải, trình tự acid amin (aa) và đặc điểm trung tâm hoạt động. Sau đó loại nước, tách các cấu tử (ligand) ra khỏi cấu trúc của protein và cuối cùng thêm hydro, gắn trường lực Kollman và xây dựng tệp *.pdbqt. Các bước này được tiến hành trên phần mềm MGLtools.

- Chuẩn bị cấu tử: Các chất sau khi tiền sàng lọc được xây dựng cấu trúc 2D bằng Chemdraw, sau đó xây dựng công thức 3D hợp chất này với phần mềm MarvinSketch, tối ưu hóa năng lượng trên server RunProdrgr. Sau cùng, sử dụng phần mềm MGLtools thêm hydrogen, gắn

trường lực Gasteiger và xây dựng tệp *.pdbqt.

- Mô phỏng protein docking:

Quá trình này gồm 2 bước:

+ Dock lại: Cơ chất đồng tinh thể (Sitagliptin enamine, CAS: 767340-03-4) được dock lại để đánh giá độ chính xác của docking phân tử. Quá trình chuẩn bị cấu tử tương tự như trên. Dữ liệu các tệp pdbqt đã xây dựng của hợp chất và của protein sẽ được tiến hành docking, sử dụng phần mềm Autodock Vina. Trung tâm grid box được đặt ở vị trí ban đầu của Sitagliptin enamine trong cấu trúc tinh thể. Kích thước grid box: 26 x 26 x 22 Å. Số vòng lặp cho chương trình là 8 vòng, các tham số khác được cài đặt ở chế độ mặc định. Kết quả dock lại được đánh giá dựa trên sự trùng khớp của kết quả với cấu dạng ban đầu của cơ chất đồng tinh thể thông qua độ lệch căn bậc 2 (Root mean square deviation – RMSD, Å), tính theo công thức sau:

$$\text{RMSD}_{(a,b)} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [(a_{ix} - b_{ix})^2 + (a_{iy} - b_{iy})^2 + (a_{iz} - b_{iz})^2]} \quad (1)$$

Trong đó n là tổng số nguyên tử; ix, iy, iz là tọa độ không gian của nguyên tử thứ i trong 2 chất a và b; RMSD càng lớn thì mức độ sai lệch của hai cấu dạng càng lớn. Nghiên cứu này áp dụng ngưỡng RMSD ≤ 2Å. Ngoài ra còn đánh giá sự tương đồng trong các tương tác của hợp chất trước và sau khi docking. Phức hệ sau khi tiến hành docking được đưa vào phần mềm ICM pro 3.8 để tiến hành tối ưu hóa và tính năng lượng tương tác ($dG_0 < 0$, kca/mol) dựa trên hàm tính điểm GBSA/MM-type tích hợp trên phần mềm này. Mức năng lượng của

Sitagliptin enamine được xem là ngưỡng để phân loại các chất có/không tương tác với đích DPP4.

+ Mô phỏng protein docking các hợp chất thiên nhiên: Quy trình tiến hành tương tự như trên. Các hợp chất có mức năng lượng tương tác tốt hơn Sitagliptin enamine được giữ lại ($dG < dG_0$). Để phù hợp với mục tiêu cũng như quy mô của nghiên cứu, chúng tôi chỉ chọn lọc 10% các chất có kết quả docking tốt nhất cho bước tiếp theo.

Bước 3 - Lựa chọn các chất tiềm năng và dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET) sử dụng công cụ hóa tin ADMElab 3.0.



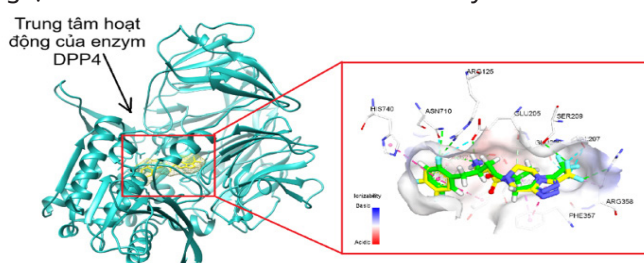
Các thông số quan trọng bao gồm: khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa, tính thấm qua hàng rào máu não, liên kết huyết tương, chuyển hóa bước một tại gan và ruột và các độc tính liên quan. Từ kết quả phân tích sẽ lựa chọn các chất tiềm năng nhất cho các thử nghiệm sau.

Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên hệ thống máy tính và không sử dụng cơ thể sống. Số liệu được phản ánh trung thực, khách quan và chính xác.

KẾT QUẢ

Bước 1 – Tiền sàng lọc:



Hình 1. Kết quả dock lại Sitagliptin enamine (màu xanh) vào trung tâm hoạt động của DPP4 và so sánh với cơ chất đồng tinh thể (màu vàng)

Kết quả dock lại cũng phản ánh các tương tác quan trọng của cơ chất khi gắn đích DPP4 bao gồm: liên kết hydro với các axit amin Arg125, Glu206, Val207, Cys551, Tyr585, các tương tác pi stacking với Phe357, Tyr547,... Sau khi tính năng lượng tương tác giữa Sitagliptin enamine, kết quả thu được $dG_0 = -22,57$ kcal/mol. Kết quả này là phù hợp và có thể ứng dụng trong bước

Từ 1376 hợp chất từ CSDL ban đầu, chỉ 512 chất không vi phạm quá một tiêu chí trong các quy tắc giống thuốc: Lipinski, Veber, Egan, Muegge.

Bước 2 – Mô phỏng protein docking:

+ Dock lại cơ chất đồng tinh thể Sitagliptin enamine: Kết quả dock lại cho thấy mô hình protein docking có thể tái lập gần như tương tự các đặc điểm liên quan cấu trúc – tác dụng ức chế DPP4 của cơ chất đồng tinh thể với độ lệch rất nhỏ: RMSD = 0,569Å. Hình 1 mô tả kết quả dock lại và giống hàng giữa cơ chất đồng tinh thể và chất này sau khi dock lại.

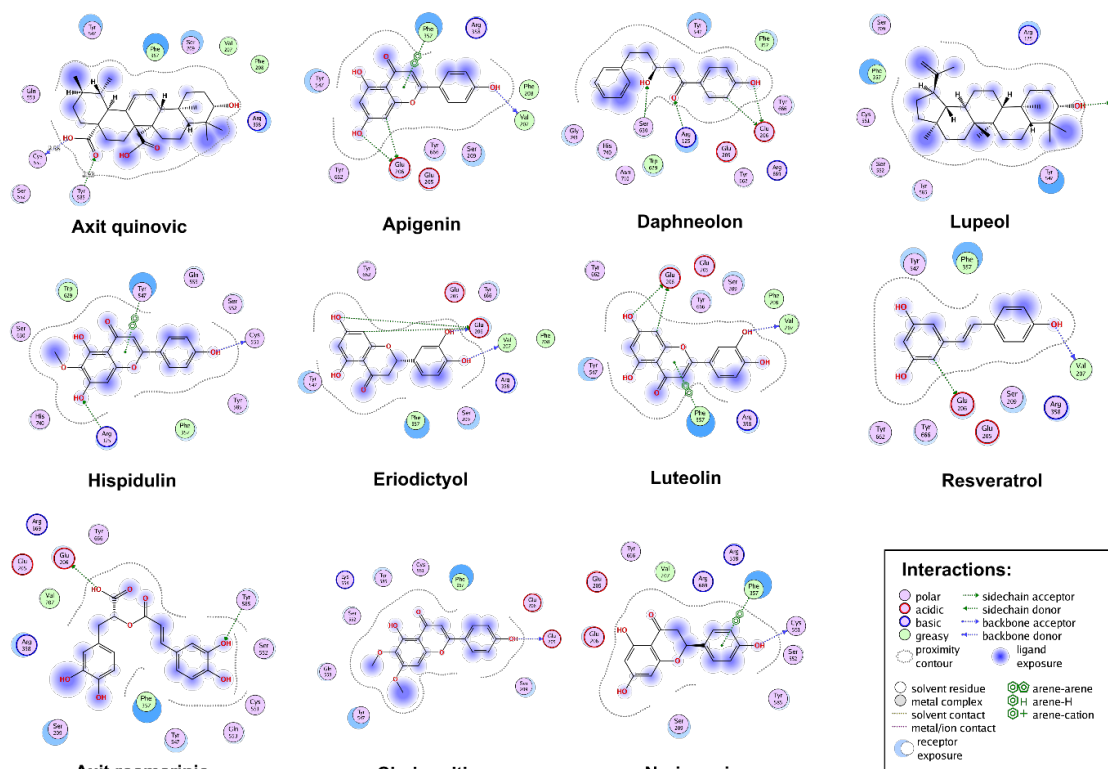
sàng lọc tiếp theo.

+ Mô phỏng protein docking 512 hợp chất thiên nhiên từ CSDL ban đầu thu được 114 hợp chất có $dG < dG_0$. Do đó, chỉ 11 chất (10%) có dG thấp nhất được chọn. Đây là các chất thể hiện ái lực liên kết mạnh nhất với đích DPP4. Năng lượng gắn kết và tương tác topo của 11 chất này được biểu diễn trong Bảng 1 và Hình 2.

Bảng 1. Kết quả tiền sàng lọc và docking của 11 hợp chất thiên nhiên tiềm năng

STT	Hợp chất	Lipinski ¹	Veber ¹	Egan ¹	Muegge ¹	F-score ²	dG (kcal/mol)
1	Axit quinic	1	0	1	1	0,56	-22,93
2	Apigenin	0	0	0	0	0,55	-23,05
3	Daphneol	0	0	0	0	0,55	-22,82
4	Lupeol	1	0	1	1	0,55	-23,00
5	Hispidulin	0	0	0	0	0,55	-23,17
6	Eriodictyol	0	0	0	0	0,55	-23,31
7	Luteolin	0	0	0	0	0,55	-23,71
8	Resveratrol	0	0	0	0	0,55	-22,92
9	Axit rosmarinic	0	1	1	0	0,56	-23,11
10	Cirsimaritin	0	0	0	0	0,55	-23,47
11	Naringenin	0	0	0	0	0,55	-27,81
12	Sitagliptin enamine ³	0	0	0	0	0,55	-22,57

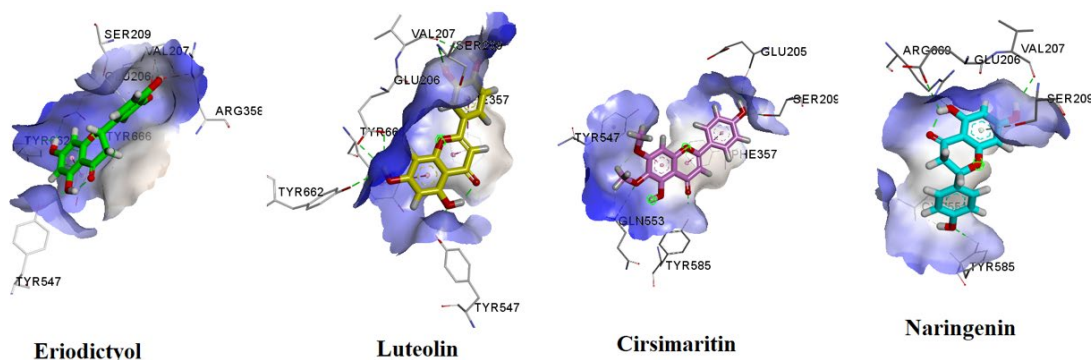
(¹Số vi phạm các quy tắc giống thuốc; ²điểm sinh khả dụng; ³chất đối chứng dương)



Hình 2. Tương tác topo của các chất trong trung tâm hoạt động của DPP4

Tất cả 11 hợp chất đều tương tác tốt với trung tâm hoạt động của DPP4. Trong các chất này, chúng tôi phát hiện 4 chất cho kết quả docking phân tử tốt nhất là các chất có ái lực cao nhất, gồm: eriodictyol (–23,31 kcal/mol), luteolin (–23,71 kcal/mol), cirsimaritin (–23,47 kcal/mol) và naringenin (–27,81 kcal/mol) (Hình 4). Eriodictyol và luteolin chủ yếu tương tác với các aa ở đáy túi, bao gồm

Ser209, Arg356 và Phe357. Ở miệng túi, nhóm 5,7-dihydroxy-4-benzopyrone tạo tương tác hydro với Tyr547 và pi-stacking với Phe357 và Tyr682. Trong 4 chất được chọn này, eriodictyol thể hiện tương tác yếu hơn với đích. Trong khi đó cirsimaritin và naringenin tương tác gần tương tự như chất đối chứng dương (Sitagliptin enamine) với năng lượng tương tác tốt hơn so với naringenin.



Hình 3. Tương tác giữa một số hợp chất sàng lọc được với DPP-IV



Bước 3: Để lựa chọn các chất tiềm năng nhất, 4 chất có ái lực cao nhất với đích được tiếp tục nghiên cứu sâu thông số hóa lý và đặc điểm dược động học và độc tính, sử dụng công cụ ADMETsar và SwissADME, thu được kết quả như trong Bảng 2. Về đặc điểm giống thuốc, eriodictyol cũng như các flavonoid được chọn đều cho thấy đặc điểm giống thuốc khá tốt với F-score $\geq 0,55$ (Bảng 1).

Bảng 2. Các tính chất ADMET (giá trị trong ngoặc biểu diễn xác suất dự đoán)

Hoạt chất	Eriodictyol	Luteolin	Cirsimaritin	Naringenin
Hấp thu				
Tính thấm qua màng tế bào Caco-2	Thấp (0,895)	Thấp (0,898)	Trung bình (0,902)	Trung bình (0,753)
Tính thấm qua hàng rào máu não (BBB)	Thấp (0,578)	Thấp (0,571)	Thấp (0,682)	Trung bình (0,679)
Hấp thu qua đường ruột	Trung bình (0,953)	Trung bình (0,965)	Trung bình (0,987)	Trung bình (0,967)
Sinh khả dụng đường uống	Thấp (0,945)	Thấp (0,931)	Thấp (0,898)	Thấp (0,894)
Phân bố				
Tế bào	Ty thể (0,595)	Ty thể (0,589)	Ty thể (0,815)	Ty thể (0,758)
Liên kết protein huyết tương(%)	65,0	69,0	70,5	68,8
Chuyển hóa				
Cơ chất glycoprotein P	Có (0,921)	Có (0,562)	Có (0,627)	Có (0,545)
Cơ chất CYP3A4	Không (0,584)	Không (0,653)	Không (0,557)	Không (0,629)
Cơ chất CYP2C9	Không (0,766)	Không (0,789)	Không (0,789)	Không (0,742)
Cơ chất CYP2D6	Không (0,878)	Không (0,941)	Không (0,792)	Không (0,869)
Ức chế CYP3A4	Có (0,700)	Không (0,911)	Không (0,557)	Có (0,898)
Ức chế CYP2C9	Có (0,579)	Không (0,582)	Có (0,776)	Có (0,894)
Ức chế CYP2C19	Không (0,792)	Không (0,902)	Có (0,896)	Có (0,899)
Ức chế CYP2D6	Không (0,792)	Không (0,928)	Không (0,733)	Không (0,756)
Ức chế CYP1A2	Có (0,819)	Có (0,910)	Có (0,867)	Có (0,910)
Chuyển hóa Glucuronosyltransferase	Có (0,578)	Có (0,682)	Có (0,768)	Có (0,762)
Thải trừ				
Thải trừ qua nước tiểu (%)	78,6	75,5	77,5	80,6
Độc tính				
Gan	Không (0,975)	Không (0,525)	Không (0,885)	Không (0,736)
Kích ứng mắt	Không (0,812)	Không (0,945)	Không (0,915)	Không (0,936)
Đột biến gen	Không (0,951)	Không (0,722)	Không (0,926)	Không (0,883)
Ức chế kênh hERG (độc tính trên tim)	Không (0,957)	Không (0,978)	Không (0,982)	Không (0,964)
Liều gây độc tính cấp trên chuột (kg/mol)	3,45	3,02	3,058	3,511



Kết quả phân tích đặc điểm ADMET của 4 hoạt chất cho thấy về hấp thu, các đặc điểm như tính thấm và độ tan khá thấp. Các chất này có khả năng liên kết với protein huyết tương 65–70%, và được dự đoán là cơ chất của bơm tổng thuốc glycoprotein P, do đó có thể cản trở quá trình hấp thu. Về chuyển hóa, các chất được dự đoán có khả năng ức chế một số cytochrome tại gan như CYP1A2, 3A4 và 2C9 cũng như bị chuyển hóa bước 2 bởi glucuronosyltransferase. Dự đoán cho thấy >70% hoạt chất sẽ chủ yếu bị đào thải qua nước tiểu. Các chất này cũng được dự đoán là an toàn vì không ghi nhận độc tính tại các cơ quan cũng như trên bộ máy di truyền (nguy cơ gây ung thư).

BÀN LUẬN

Sàng lọc các hợp chất thiên nhiên hướng điều trị đang là một trong những xu hướng được khoa học rất quan tâm hiện nay. Theo một số nghiên cứu đã được công bố, hầu hết các hoạt chất tự nhiên là các chất chuyển hóa thứ cấp có cấu trúc phức tạp, khó tổng hợp, do đó chúng mang đặc điểm hóa học mới và duy nhất. Các mô hình *in silico* đã được ứng dụng rộng rãi trong sàng lọc tìm kiếm hợp chất thiên nhiên hướng điều trị ĐTĐ nhằm thu hẹp không gian tìm kiếm và giúp tăng xác suất thành công so với sàng lọc thực nghiệm trên đích phân tử, tế bào hay mô hình động vật [1],[2].

Mặt khác, DPP4 được đánh giá là một mục tiêu hấp dẫn trong nghiên cứu thuốc mới điều trị ĐTĐ2. Ức chế enzym này sẽ làm tăng nồng độ và kéo dài thời gian tác dụng của incretin, làm tăng tiết insulin và giảm tiết glucagon trong tuần hoàn, dẫn đến giảm glucose máu. Theo hướng này, chúng tôi đã thiết lập một quy trình sàng lọc *in silico* dựa trên mô phỏng protein docking để tìm kiếm hoạt chất thiên nhiên có tác dụng ức chế DPP4. Hơn 1300 hợp chất đã được sàng lọc và 11 chất có tác dụng mạnh trên đích DPP4 đã được phát hiện. Trong đó, có 4 chất thể hiện hoạt tính tốt nhất là 4 flavonoid: eriodictyol, naringenin, luteolin và cirsimaritin. Eriodictyol là một flavanon phổ biến được tìm thấy với hàm lượng tương đối cao trong vỏ quả các loài citrus, với đặc tính thay đổi vị giác. Các tác dụng dược lý đã được công bố cho hoạt chất này gồm bảo vệ tim mạch, độc tính tế bào [7],... Đối với ĐTĐ2, chất này từng được nghiên cứu trên mô hình *in vivo* tác dụng

ức chế tân tạo glucose ở gan, tăng cường chuyển hóa glucose cũng như điều hòa hormon incretin. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng trên DPP4. Kết quả docking cho thấy chất này có thể là một chất ức chế tiềm năng đối với DPP4. Tác dụng này có được là nhờ các tương tác với các aa Glu206, Val207, Arg358, Tyr547... của đích, đồng thời có cấu dạng tương tự Sitagliptin enamine. Chất thứ hai, naringenin là một flavanone glycosid, có hàm lượng cao trong bưởi, tạo vị đắng. Naringenin từng được nghiên cứu nhiều tác dụng dược lý như chống oxy hóa, làm giảm lipid máu, chống ung thư. Một số công bố về tác dụng của chất này trên ĐTĐ2 đã công bố, ví dụ như tác dụng chống viêm, chống oxy hóa cũng như cải thiện hoạt tính của protein vận chuyển glucose nội tế bào (GLUT4) [8]. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu về tác dụng của naringenin trên DPP4, do đó đây được xem một kết quả mới về khả năng tương tác của naringenin đối với enzym DPP4. Kết quả docking cho thấy chất này tạo được mạng lưới các tương tác dày đặc với các aa Cys551, Tyr585, Val207, Phe357,... tương tự chất đối chứng dương. Thứ ba là luteolin, một flavon, cho kết quả docking và cấu dạng liên kết tương tự naringenin. Đây cũng là một hợp chất có lợi cho sức khỏe, được phát hiện khá nhiều trong tự nhiên như oregano (~1%), cây bạc hà, xô thơm, cỏ xạ hương (>10%),... luteolin và luteolin-7-O-glucoside từng được nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết trên mô hình ĐTĐ2 ở chuột [9]. Cho tới nay, cơ chế tác dụng của nó vẫn chưa rõ ràng, và các nghiên cứu mới chỉ chỉ ra hoạt tính quan trọng như chống oxy hóa hay chống viêm. Kết quả docking trong nghiên cứu này dự đoán tác dụng ức chế DPP4 của naringenin tương tự như chất đối chứng dương. Chất cuối cùng được chọn là cirsimaritin, một flavonoid được tìm thấy trong nhiều thảo dược quý của nước ta như hương nhu tía (*Ocimum tenuiflorum* L.) hay hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.). Hoạt chất này từng được nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa, hướng điều trị ĐTĐ2 sử dụng các mô hình *in vitro* hay *in vivo* [10]. Tuy nhiên cơ chế tác dụng của chất này vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Dựa trên kết quả docking phân tử, có thể thấy cirsimaritin có khả năng tạo tương tác bền vững với DPP4 thông qua các liên kết kỵ nước với Phe357, Tyr585, Cys551 hay Glu206. Ngoài ra nó tạo được một liên kết cho hydro với Glu205



tương tự như chất đối chứng dương. Năng lượng tương tác của cirsimaritin với DPP4 mạnh hơn so với cơ chất đồng tinh thể (Bảng 1), từ đó có thể suy ra đây cũng là một chất ức chế tiềm năng đối với enzym này.

Để đánh giá tiềm năng phát triển của 4 chất được chọn, chúng tôi đã tính toán các thông số dược động học và độc tính sử dụng ADMElab và SwissADME. Theo đó, các chất này có tính thấm và độ tan khá thấp, đều là cơ chất của bơm tổng thuốc glycoprotein P, do đó có thể cản trở quá trình hấp thu. Về chuyển hóa, các chất được dự đoán có khả năng ức chế một số cytochrome tại gan như CYP1A2, 3A4 và 2C9, vì vậy có thể có tương tác thuốc-thuốc khi dùng kèm. Dự đoán còn cho thấy các chất này có thể được chuyển hóa bước 2 bởi glucuronosyltransferase và >70% hoạt chất sẽ bị đào thải qua nước tiểu. Đồng thời, đây cũng là các chất an toàn, không gây độc tính trên các cơ quan. Ngoài ra, chúng không gây đột biến gen và ít có nguy cơ gây ung thư (Bảng 2).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã sàng lọc được một số hợp chất có tác dụng ức chế DPP4 hướng điều trị đái tháo đường từ cơ sở dữ liệu hợp chất thiên nhiên Việt Nam. Kết quả nghiên cứu đã dự đoán 11 hợp chất tiềm năng có tác dụng trên đích phân tử DPP4. Trong đó, có 4 hợp chất flavonoid có ái lực mạnh nhất với đích tác dụng là eriodictyol, luteolin, cirsimaritin và naringenin. Đồng thời, các tương tác chính của chúng với đích cũng được xác định. Các phân tích dược động học và độc tính cũng chỉ ra tiềm năng để phát triển thành thuốc của các chất này. Đây là kết quả có ý nghĩa khoa học gợi ý cho quá trình nghiên cứu thực nghiệm và phát triển thuốc định hướng điều trị ĐTĐ2 trong tương lai. Các nghiên cứu thực nghiệm cần được tiến hành để nghiên cứu sâu hơn hoạt tính trên đích DPP4 của các hợp chất này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bowman P, Flanagan SE, et al.** Future Roadmaps for Precision Medicine Applied to Diabetes: Rising to the Challenge of Heterogeneity. *Journal of Diabetes Research*, 2018, pp.1-12.
2. **Karagiannis T, Paschos P, et al.** Dipeptidyl

peptidase-4 inhibitors for treatment of type 2 diabetes mellitus in the clinical setting: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2012, 344, pp. e1369.

3. **Jain AN.** Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein & Peptide Science*, 2006, 7(5), pp. 407-420.

4. **Nguyen TTTH.** *Initial building a database of Vietnamese natural compounds for virtual screening (In Vietnamese)*, Graduation thesis, VNU University of Medicine and Pharmacy, 2017.

5. **Zhang M-Q.** Working with small molecules: rules-of-thumb of "drug likeness". *Methods in Molecular Biology*, 2012, 803, pp. 297-307.

6. **Kim D, Wang L, et al.** (2R)-4-Oxo-4-[3-(Trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine: A Potent, Orally Active Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, 48(1), pp.141-151.

7. **Schmidt JM, Miklos F.** Property Distribution: Differences between Drugs, Natural Products and Molecules from Combinatorial Chemistry. *Journal of Chemical Information & Computer Sciences*, 2003, 43(1), pp.218-227.

8. **Kwon EY, Choi MS.** Dietary eriodictyol alleviates adiposity, hepatic steatosis, insulin resistance, and inflammation in diet-induced obese mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(5), pp. 1227.

9. **Den Hartogh DJ, Tsiani E.** Antidiabetic Properties of Naringenin: A Citrus Fruit Polyphenol. *Biomolecules*, 2019, 9(3), pp. 99.

10. **Zang Y, Igarashi K, et al.** Anti-diabetic effects of luteolin and luteolin-7-O-glucoside on KK-A(y) mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80(8), 2016, pp.1580-1586.

11. **Alqudah A, Athamneh R, et al.** The Emerging Importance of Cirsimaritin in Type 2 Diabetes Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(6), pp. 5749.