Đánh giá tác dụng điều trị bệnh Parkinson của các hợp chất trong cây Câu Đằng (Uncaria Rhynchophylla) bằng phương pháp docking phân tử

EVALUATION OF THE THERAPEUTIC EFFECT ON PARKINSON'S DISEASE OF COMPOUNDS FROM UNCARIA RHYNCHOPHYLLA BY MOLECULAR DOCKING METHOD

Cao Thị Lan Anh, Trần Hoàng Mai, Nguyễn Như Sơn, Tạ Thị Thu Hằng, Bùi Thanh Tùng*
Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

TÓM TẮT

Parkinson (PD) là một bệnh thoái hóa thần kinh phức tạp với các đặc trưng nổi bật là rối loạn vận động não, mất ổn định tư thế, rối loạn vận động mặt, cứng cơ và run. Adenosine A2A (A2AAR) là một loại thụ thể adenosin có tương tác đối kháng sinh lý các thụ thể dopamine có trong thể vân và có liên quan đến sự phát triển của chứng rối loạn vận động. Monoamine oxidase B (MAO-B) phân hủy dopamine thành hydrogen peroxide do đó nó liên quan tới những tổn thương trong PD. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá tác dụng ức chế A2AAR và MAO-B của các hợp chất trong cây Câu Đằng bằng phương pháp docking phân tử. Dựa trên các tài liệu đã công bố, chúng tôi thu được 80 hợp chất từ cây Câu Đằng. Kết quả sàng lọc insilico cho thấy có 4 hợp chất bao gồm cinchonain Id, acid hyptatic A, acid uncarinic B và acid ursolic lactone thể hiện khả năng ức chế cả 2 đích A2AAR và MAO-B, thỏa mãn quy tắc 5 Linpiski với các đặc tính dược động học ADMET khả quan và ít độc tính, có tiềm năng phát triển thành thuốc điều trị Parkinson.

Từ khóa: *Parkinson, A2AAR, MAO-B, docking phân tử, Câu Đằng, ADMET*

ABSTRACTS

Parkinson's disease (PD) is a complex neurodegenerative disease with prominent features of cerebral dyskinesia, postural instability, facial dyskinesia, muscle stiffness and tremor. Adenosine A2A (A2AAR) is an adenosine receptor that physiologically antagonistic interactions with dopamine receptors present in the striatum and has been implicated in the development of dyskinesia. Monoamine oxidase B (MAO-B) breaks down dopamine into hydrogen peroxide and is therefore related to the damage in PD. This study was conducted to screen potential compounds in Uncaria Rhynchophylla that inhibit dual-target A2AAR/MAO-B by molecular docking method.. Based on the published literature, we obtained 80 compounds from Uncaria Rhynchophylla. The results showed that out of 80 compounds, 4 compounds including cinchonain Id, hyptatic acid A, uncarinic acid B and ursolic acid lactone showed showed the ability to inhibit both A2AAR and MAO-B targets, satisfying the Linpiski's rule of five with ADMET pharmacokinetic properties and low toxicity, has potential for development as a drug for Parkinson's.

Keywords: *Parkinson's disease, A2AAR, MAO-B, molecular docking, Uncaria Rhynchophylla, ADMET.*

Ngày nhận bài: 12/09/2022
Ngày phản biện: 15/09/2022
Ngày chấp nhận đăng: 10/10/2022

ĐẶT VẤN ĐỀ

Parkinson là bệnh rối loạn thoái hóa thần kinh phổ biến thứ 2 sau Alzheimer gây ra tình trạng rối loạn vận động và không vận động làm giảm chất lượng cuộc sống và gây tử vong đối với người bệnh [1]. Hiện tại, thế giới vẫn chưa có một phương pháp điều trị tối ưu cho căn bệnh này. Các thuốc điều trị hiện nay không làm giảm được một nửa tình trạng bệnh. Vì vậy, việc tìm kiếm các liệu pháp mới dựa trên các thành phần hóa thực vật cho tác dụng bảo vệ thần kinh trong điều trị Parkinson là vô cùng cần thiết. Các thuốc hiện đang được sử dụng có tác dụng ức chế MAO-B. Trong những năm gần đây, các chất đối kháng thụ thể adenosine đã thu hút nhiều sự chú ý trong việc phát triển các liệu pháp nondopaminergic để điều trị Parkinson. Trong đó thụ thể A2AAR là mục tiêu tiềm năng và cần được nghiên cứu sâu hơn [2]. Theo Y học cổ truyền, Câu Đằng (*Uncaria rhynchophylla*) là thảo dược quý làm giảm chứng kinh phong (co giật, run rẩy), có tiềm năng trong việc điều trị Parkinson. Docking phân tử là một phương pháp dự đoán hướng liên kết của một phân tử vào phân tử thứ hai tạo thành một phức chất ổn định. Ưu điểm của phương pháp này là tiết kiệm thời gian và giảm chi phí hơn so với các phương pháp thực nghiệm khác để sàng lọc các hợp chất tiềm năng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp docking phân tử để tìm kiếm các hợp chất trong cây Câu Đằng có tác dụng ức chế A2AAR / MAO-B mục tiêu kép có các đặc điểm giống thuốc, tính toán các thông số dược động học và độc tính của các hợp chất tốt nhất thu được sau quá trình sàng lọc.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mô hình docking

Chuẩn bị protein: Cấu trúc 3D của protein A2AAR (ID: 3EML) và MAO-B (ID: 2V5Z) được tải về từ Protein Data Bank. Quá trình chuẩn bị protein bao gồm: loại bỏ phân tử nước, tách cấu trúc đồng kết tinh ra khỏi protein, gắn trường lực và hiệu chỉnh trạng thái proton hóa của các acid amin. Vùng hoạt động được lựa chọn bởi hộp lưới có kích thước lần lượt là 70x70x80 Å, tọa độ trục là x= -5,968, y= -10,31, z= 53,267 (A2AAR) và 70x70x70 Å, tọa độ trục là x= 51,661, y= 155,622, z= 27,829 (MAO-B).

Chuẩn bị phối tử: Tiến hành thu thập các bài báo đã được công bố về thành phần hóa học từ cây Câu Đằng, sau đó tải các hợp chất từ cơ sở dữ liệu Pubchem (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) và lưu ở định dạng sdf. Tiếp đó, tiến hành tối ưu hóa năng lượng và chuyển thành định dạng pdb, sử dụng phương pháp Gradien liên hợp (Conjugate Gradients) rồi chuyển thành định dạng pdbqt.

Thực hiện docking phân tử: Các phối tử được dock vào trung tâm hoạt động của protein sử dụng phần mềm Autodock vina.

Đánh giá kết quả docking: Để đánh giá kết quả mô hình docking, phối tử đồng tinh thể được re-dock lại vào vị trí hoạt động của protein. Quá trình thành công nếu như giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) không vượt quá 1.5 Å [3].

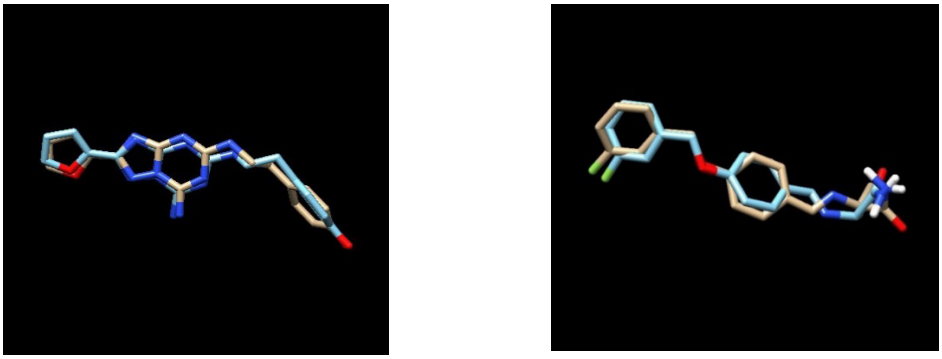
Đánh giá quy tắc Lipinski 5 và dự đoán ADMET

Quy tự đoápinski 5 được sử dụng để đánh giá các đác giáoápinski 5 được sử dụng để chúng cc giáoápinski . Bài nghiên cnski 5 được sử dụng để chúng với các acid amihttp://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp) đp://www.scfbio-iitd.r “gi://www.scfbio-iitd.res.in/so Sau đó ti//www.scfbio-iitd.res.in/soADMET vwww.scfbio-iitd.res.in/so Swavà đT vwww.scfbio-iitd.res.in/so Sware/thông qua công cuaw.scfbio-iitd.res.in/so Sware/drugdesign/lipinski.jsplipinski.jsp" ng cũng như năng lượng tương tác t

KẾT QUẢ

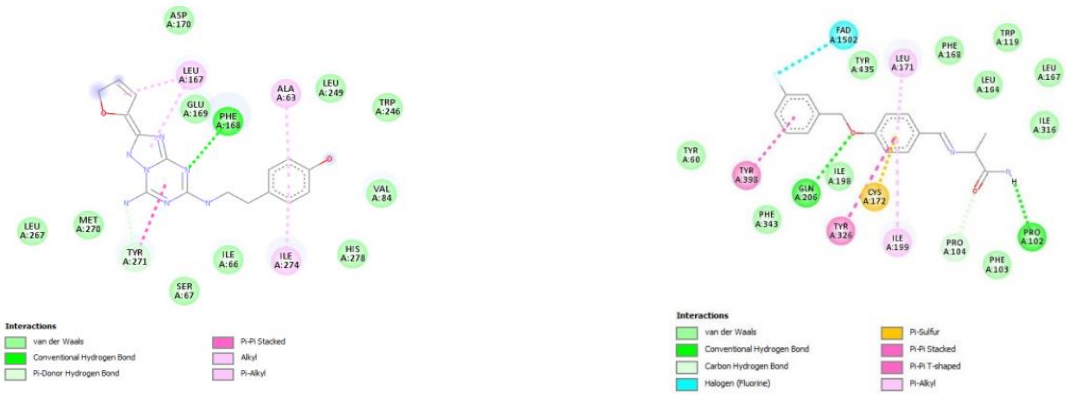
Đánh giá mô hình docking

Để đánh giá đội tin cậy của quá trình docking, phối tử đồng kết tinh cần được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu bằng phần mềm Chimera. Chúng tôi xác định độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) của ZMA và SAG lần lượt là 1,24 Å và 1,382 Å. Hai giá trị RMSD này đều nhỏ hơn 1,5 Å, chứng tỏ quá trình docking là đáng tin cậy (**Hình 1**).



Hình 1. *Kết quả sự chồng chất của phối tử đồng kết tinh ZMA (trái) và SAG (phải) trước và sau khi re-dock.*

Kết quả redock của 2 phối tử đồng kết tinh ZMA và SAG vào hai mục tiêu protein A2AAR và MAO-B thu dược năng lượng gắn kết lần lượt là -7,7 và -9,8 kcal/mol. *Biểu diễn tương tác 2D của ZMA và SAG với các acid amin tương ứng của hai protein A2AAR và MAO-B được thể hiện trong* ***Hình 2.***



Hình 2. *Biểu diễn tương tác 2D của ZMA (trái) và SAG (phải) với các acid amin tương ứng.*

Kết quả sàng lọc docking của 80 hợp chất

Tiến hành docking 80 hợp chất thiên nhiên từ cây Câu Đằng vào vùng hoạt động của protein, chúng tôi thu được 9 hợp chất tiềm năng ức chế đồng thời cả 2 đích. Kết quả được thể hiện trong **Bảng 1**.

Bảng 1. Kết quả mô phỏng docking của 9 hợp chất thỏa mãn trong cây Câu Đằng.

STT	Tên	ID Pubchem	A2AAR (3EML)	MAO-B (2V5Z)
1	3α-Dihydrocadambine	162138	-12,6	-11,7
2	Angustidine	3084770	-10,6	-9,8
3	Cinchonain Id	21676382	-10,2	-12,0

4	Cryptochlorogenic acid	9798666	-8,3	-10,4
5	Hyptatic acid A	12305222	-7,9	-9,8
6	Saponin A	85144169	-11,2	-14,2
7	Timosaponin A-III	15953793	-14,9	-13,4
8	Uncarinic acid B	100967916	-8,4	-9,8
9	Ursolic acid lactone	21669105	-9,3	-9,9
+	ZMA		-7,7	
+	SAG			-9,8

Sàng lọc các hợp chất giống thuốc

Kết quả nghiên cứu đặc điểm "giống thuốc" của 9 hợp được trình bày ở **Bảng 2.**

Bảng 2. Kết quả đánh giá đặc điểm "giống thuốc" theo quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski.

STT	Hợp chất	Trọng lượng phân tử	Nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	Log P	Độ khúc xạ mol (MR)	Hợp chất giống thuốc
1	3α-Dihydrocadambine	546	6	11	-0,71	133,74	Không
2	Angustidine	301	1	3	3,15	88,95	Có
3	Cinchonain Id	452	6	9	2,69	112,82	Có
4	Acid cryptochlorogenic	345	6	9	-0,65	82,52	Có
5	Acid hyptatic A	488	4	5	5,18	133,48	Có
6	Saponin A	957	11	18	-0,12	231	Không
7	Timosaponin A-III	741	7	13	1,44	183	Không
8	Acid uncarinic B	649	3	6	8,19	181,66	Có
9	Acid ursolic lactone	456	1	3	6,76	130,33	Có

Từ kết quả bảng 2 cho thấy, có 6/9 hợp chất thỏa mãn quy tắc Lipinski 5, có đặc tính "giống thuốc". Đặc biệt, angustidine thỏa mãn cả 5 tiêu chí, cho thấy đặc tính giống thuốc rất cao. Do đó, chúng tôi tiếp tục đánh giá các thông số về hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính của 6 hợp chất này.

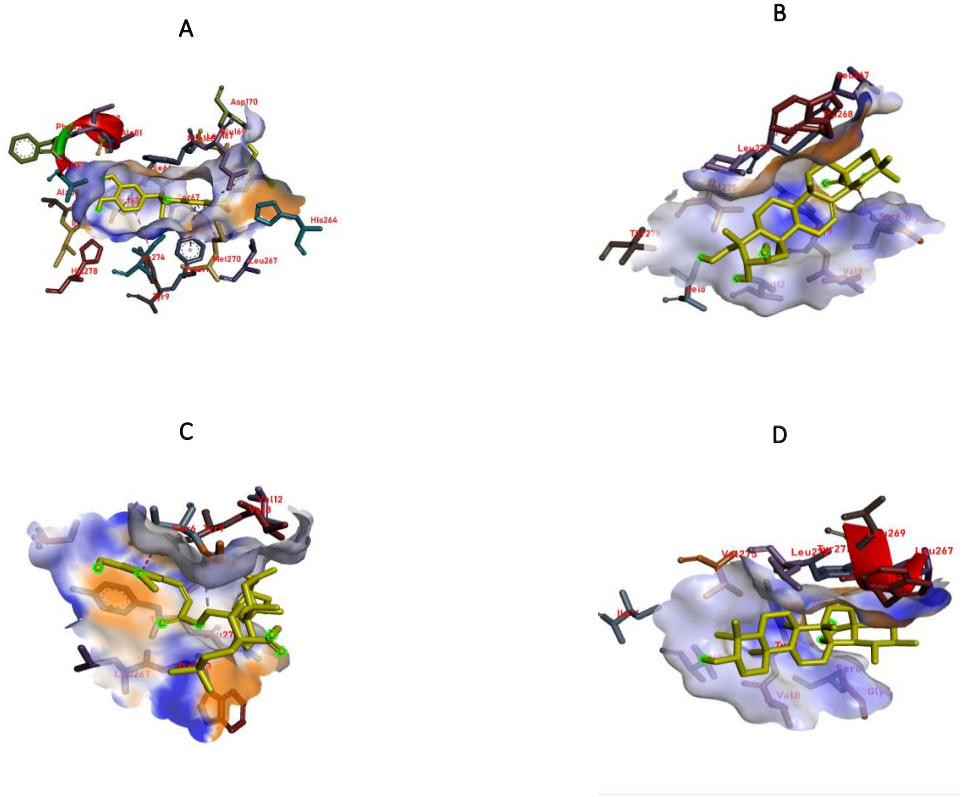
Dự đoán các thông số ADMET

Kết quả dự đoán của 6 hợp chất được trình bày ở **Bảng 3.**

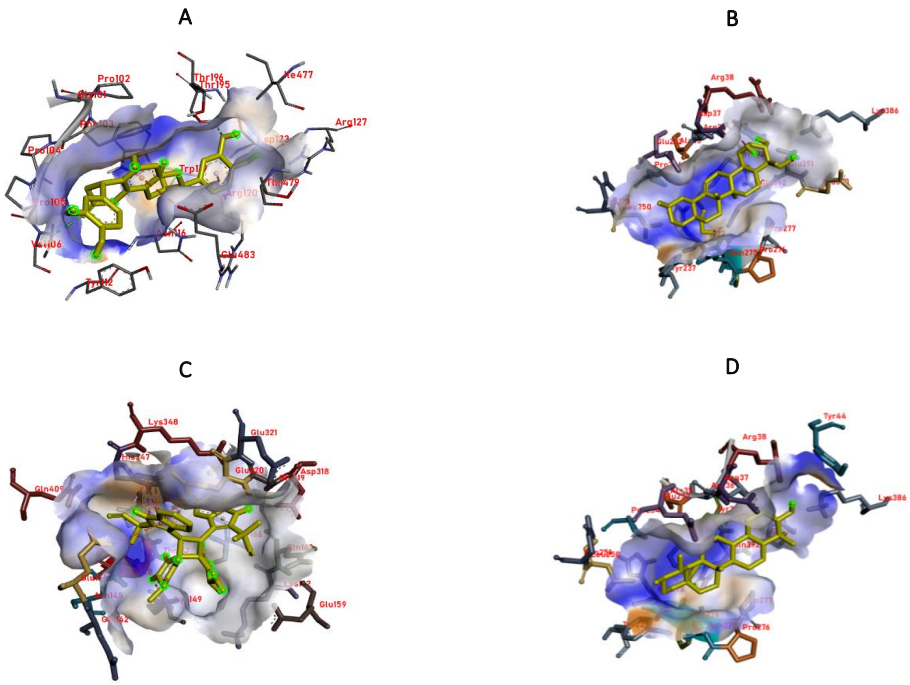
Bảng 3. Kết quả phân tích các đặc tính dược động học và độc tính.

Thông số	Angustidine	Cinchonain Id	Acid cryptochlorogenic	Acid hyptatic A	Acid uncarinic B	Acid ursolic lactone
HẤP THU						
Độ hòa tan LogS (log µg/mL)	26,246	56,825	3849,325	0,673	2.774	0,126
Tính thấm màng Caco2 (log-P_{app} cm/s)	-4,75	-6,682	-6,553	-5,008	-5,246	-4,745
Hấp thu ở ruột (%)	86,3	45,8	32,5	57,9	69,2	80,4
PHÂN BỐ						
Thể tích phân bố (log L/kg)	0,698	-0,8	-1,279	-0,574	-0,49	-0,343
Tính thấm BBB (log BB)	+++	++	---	+	---	++
Liên kết protein huyết tương (%)	81,347	85,633	50,151	88,088	85,122	82,175
CHUYỂN HÓA						
Ức chế CYP1A2	++	---	---	---	---	---
Ức chế CYP3A4	-	---	---	---	+	---
Ức chế CYP2C9	---	---	---	---	-	---
Ức chế CYP2C19	---	-	---	---	---	---
Ức chế CYP2D6	---	-	---	---	-	---
THẢI TRỪ						
$T_{1/2}$ (giờ)	2,035	1,631	0,473	1,86	2,317	1,639
Độ thanh thải toàn phần (log ml/phút/kg)	2,164	1,138	1,195	1,394	1,307	1,462
ĐỘC TÍNH						
Độc tính gan	++	-	+	---	-	---
Độc tính AMES	+	-	---	---	---	---
Kích ứng da	---	---	-	---	---	-

Về hấp thu, nhìn chung, cả 6 hợp chất đều có khả năng hấp thu ở ruột người HIA > 30%. Hai hợp chất angustidine và acid ursolic lactone cho % hấp thu ở ruột cao nhất, lần lượt là 86,3 và 80,4%. Acid cryptochlorogenic cho % hấp thu thấp nhất, chỉ với 32,5% nhưng độ hòa tan logS lại cho kết quả tốt (3849,325 µg/mL). Về phân bố, khả năng liên kết với protein huyết tương của tất cả các hợp chất đều tương đối cao. Khả năng qua hàng rào máu não của angustidine, cinchonain Id và acid ursolic lactone tốt, tốt nhất là angustidine. Kết quả này tương đối khả quan vì tính thấm qua hàng rào máu não có ý nghĩa rất lớn trong việc điều trị các bệnh liên quan đến não như Parkinson. Về chuyển hóa, trừ angustidine có khả năng ức chế CYP1A2 và acid uncarinic B ức chế CYP3A4, hầu như các hợp chất đều không cho thấy khả năng ức chế các CYP. Về thải trừ, thời gian bán thải của các hợp chất tương đối nhanh, đều nhỏ hơn 3 giờ. Đồng thời, độ thanh thải toàn phần của cả 6 hợp chất đều nằm ở mức thấp, nhỏ hơn 5 ml/phút/kg. Về độc tính, trừ angustidine và acid cryptochlorogenic, các hợp chất khác đều được dự đoán là không gây độc tính cho gan, kích ứng da, không có độc tính AMES. Từ những phân tích trên, chúng tôi chọn ra 4 hợp chất cinchonain Id, acid hyptatic A, acid uncarinic B và acid ursolic lactone có kết quả dự đoán dược động học tương đối tốt mà ít độc tính. Tương tác giữa 4 hợp chất này với các acid amin trong vùng hoạt động của các protein A2AAR và MAO-B được biểu diễn trong **Hình 3** và **Hình 4.**



Hình 3. *Biểu diễn tương tác 3D của các hợp chất Cinchonain Id (A), Acid hyptatic A (B), Acid uncarinic B (C), Acid ursolic lactone (D) với các acid amin trong vùng hoạt động của đích A2AAR*



Hình 4. *Biểu diễn tương tác 3D của các hợp chất Cinchonain Id (A), Acid hyptatic A (B), Acid uncarinic B (C), Acid ursolic lactone (D) với các acid amin trong vùng hoạt động của đích MAO-B*

Biểu diễn tương tác 3D của 4 hợp chất cho thấy các hợp chất đều nằm gọn trong vùng hoạt động của protein đích A2AAR và MAO-B. Xét về khả năng tương tác với các acid amin của 4 hợp chất trên hai đích thì đều cho thấy sự tương đồng. Cụ thể, trên đích A2AAR, giống với phối tử đồng kết tinh ZMA, cinchonain Id, acid hyptatic A, acid uncarinic B và acid ursolic lactone cũng cho thấy khả năng tạo nhiều liên kết với các acid amin quan trọng như Leu-85, Phe-168, Glu-169, Met-177. Đối với đích MAO-B, phối tử đồng kết tinh SAG tạo nhiều liên kết đa dạng với nhiều acid amin quan trọng như: Pro-102, Leu- 171, Cys-172, Ile-198, Ile-199 và vòng isoalloxazine của FAD. Kết quả biểu diễn tương tác của bốn hợp chất tiềm năng cho thấy cả 4 hợp chất đều tạo liên kết hydro, π-π, π-alkyl, van de Waals với các acid amin quan trọng này.

BÀN LUẬN

Cinchonain Id là một hợp chất flavonoid có trong một số loài thực vật như: *Trichilia catigua, Eriobotrya japonica.* Trong nghiên cứu này, cinchonain Id cho kết quả mô phỏng docking rất tốt, đặc tính "giống thuốc" rất cao (thỏa mãn 4/5 tiêu chí), dự đoán ADMET tương đối khả quan (khả năng thấm qua hàng rào máu não, không gây độc tính gan, không bị chuyển hóa qua gan,...). Do đó, các nghiên cứu sâu hơn nên được tiến hành để đánh giá khả năng trở thành thuốc điều trị Parkinson của cinchonain Id. Acid hyptatic A là một triterpen, được tìm thấy trong một số loài thực vật như: *Hyptis capitata, Premna microphylla*. Trong nghiên cứu này, acid hyptatic A cho kết quả năng lượng gắn kết trên hai đích A2AAR và MAO-B lần lượt là -7,9 và -9,8 kcal/mol, tính thấm màng Caco2 tốt, khả năng hấp thu ở ruột tốt (57,9%), không bị chuyển hóa ở gan, không có độc tính trên da, gan, AMES. Hơn nữa, acid hyptatic A cũng có khả năng qua hàng rào máu não, tiềm năng trở thành thuốc điều trị Parkinson trong tương lai. Acid uncarinic B là một hợp chất tự nhiên thuộc nhóm triterpenoid, được tìm thấy trong cây *Uncaria rhynchophylla* và *Hibiscus taiwanensis*. Với cấu trúc nhiều vòng thơm và nhóm hydroxyl, acid uncarinic B tạo nhiều

liên kết với nhiều acid amin quan trọng trên cả hai đích protein. Dự đoán ADMET cho thấy tính thấm màng Caco2 kém nhưng khả năng hấp thu ở ruột người khá cao (gần 70%), có thể ức chế CYP3A4 và không thấm qua hàng rào máu não. Vì vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn để có kết quả chính xác và cải thiện các hạn chế nhằm phát triển thành thuốc. Acid ursolic lactone được tìm thấy trong *Eucalyptus tereticornis, Tecoma stans*. Trong một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng acid ursolic lactone có tiềm năng trong điều trị đái tháo đường, béo phì *in vitro*, *in vivo [4]*. Đây là một hợp chất vô cùng tiềm năng điều trị Parkinson do có năng lượng gắn kết tốt, lần lượt là -9,3 và -9,9 kcal/mol trên hai đích A2AAR và MAO-B, dự đoán ADME rất tốt, ít độc tính. Ngoài ra, với đặc tính "giống thuốc", có khả năng qua hàng rào máu não, hợp chất acid ursolic lactone nên được tiến hành nghiên cứu *in vitro*, *in vivo* sâu hơn để xác nhận những kết quả tiềm năng này.

KẾT LUẬN

4 hợp chất gồm cinchonain Id, acid hyptatic A, acid uncarinic B và acid ursolic lactone trong cây Câu Đằng cho thấy khả năng ức chế mạnh trên cả 2 đích A2AAR và MAO-B, đặc tính giống thuốc cao và dự đoán ADMET cho khả năng hấp thu tốt, ít độc tính. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* để phát triển hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị Parkinson trowng tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Katila, N., et al., *Activation of AMPK/aPKCζ/CREB pathway by metformin is associated with upregulation of GDNF and dopamine.* Biochem Pharmacol, 2020. **180**: p. 114193.

2. Wang, M., et al., *Discovery of novel dual adenosine A1/A2A receptor antagonists using deep learning, pharmacophore modeling and molecular docking.* PLoS Comput Biol, 2021. **17**(3): p. e1008821.

3. Hevener, K.E., et al., *Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase.* J Chem Inf Model, 2009. **49**(2): p. 444-60.

4. Acin, S., et al., *Triterpene-enriched fractions from Eucalyptus tereticornis ameliorate metabolic alterations in a mouse model of diet-induced obesity.* J Ethnopharmacol, 2021. **265**: p. 113298.