

Sàng lọc *in silico* các hợp chất Xanthone có tác dụng ức chế enzym α -glucosidase định hướng điều trị đái tháo đường type 2

IN SILICO SCREENING OF XANTHONE COMPOUNDS WITH α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY TARGETING TYPE 2 DIABETES TREATMENT

Nguyễn Thị Trà, Tạ Thị Thu Hằng, Trần Hoàng Mai, Lê Thị Hương, Bùi Thanh Tùng

Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

TÓM TẮT

Xanthone có nhiều tác dụng sinh học khác nhau, bao gồm các đặc tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, gây độc tế bào và ức chế ung thư. α -glucosidase là enzym đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa carbohydrate thành glucose, gây tăng đường huyết trong cơ thể, làm tăng nguy cơ mắc đái tháo đường. Trong bài nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng ức chế enzym α -glucosidase của 133 hợp chất xanthone định hướng điều trị đái tháo đường bằng phương pháp docking phân tử. Kết quả thu được 4 hợp chất có tiềm năng nhất là mangostanol, isonormangostin, cudraxanthone B và isojacareubin. Vì vậy, đây là các hợp chất có tiềm năng trở thành thuốc điều trị đái tháo đường trong tương lai và cần được nghiên cứu sâu hơn.

Từ khóa: Xanthone, α -glucosidase, đái tháo đường type 2, docking phân tử, mangostanol, isonormangostin, cudraxanthone B, isojacareubin.

ABSTRACT

Xanthone has various biological effects, including anti-oxidase, anti-microbial, cytotoxic, and anti-cancer. α -glucosidase is an enzyme that plays an important role in converting carbohydrates into glucose, increasing blood sugar in the body to increase the risk of diabetes. In this study, we evaluated the ability of α -glucosidase enzyme inhibition of 133 compounds xanthone by molecular docking method. Finally, we obtained the 4 most potential compounds: mangostanol, isonormangostin, cudraxanthone B, and isojacareubin. Therefore, these compounds have the potential to become drugs for the treatment of type 2 diabetes in the future and need to be studied further.

Keywords: Xanthone, α -glucosidase, type 2 diabetes, molecular docking, mangostanol, isonormangostin, cudraxanthone B, isojacareubin.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của Hiệp hội Đái tháo đường Quốc tế IDF (International Diabetes Federation)

năm 2019, hiện nay trên thế giới có khoảng hơn 400 triệu người mắc bệnh đái tháo đường (ĐTĐ), ước tính đến năm 2045, con số này có thể sẽ tăng

Ngày nhận bài: 10/08/2022

Ngày phân biện: 15/08/2022

Ngày chấp nhận đăng: 31/08/2022



lên đến khoảng 700 triệu người và chi phí đáp ứng cho bệnh đái tháo đường toàn cầu dự kiến sẽ tăng lên 845 tỷ USD [1]. Đây được xem là một đại dịch không lây nhiễm với tỷ lệ mắc bệnh và tử vong cao. Vì vậy, ĐTĐ được coi là một trong những nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ tử vong tim mạch hàng đầu so với các nguyên nhân khác. α -glucosidase (AG) là một exoenzym hoạt động tương tự như glucoamylase trên di-saccharide, oligo-saccharide và aryl glucosidase, đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa carbohydrate, tạo ra glucose, làm tăng đường huyết trong cơ thể [2]. Việc ức chế enzym AG dẫn đến làm chậm quá trình chuyển hóa carbohydrate thành glucose, từ đó ngăn hiện tượng tăng đường huyết sau ăn. Hiện nay có 4 chất ức chế AG được sử dụng trong điều trị: acarbose, miglitol, voglibose và emiglitate. Tuy nhiên, đã có nhiều tài liệu chứng minh rằng việc sử dụng các chất này gây ra các tác dụng phụ trên tiêu hóa như đầy hơi, đau bụng và tiêu chảy. Ngày nay, việc phát triển các loại thuốc có nguồn gốc từ tự nhiên, ít tác dụng phụ và hiệu quả tốt hơn đang là mục tiêu để phát triển loại thuốc điều trị đái tháo đường mới. Xanthone là hợp chất được tìm thấy trong các họ thực vật bậc cao, nấm, địa y, vi khuẩn, chủ yếu được tìm thấy ở họ *Gentianaceae*, *Polygalaceae*, *Clusiaceae*.... Các hợp chất xanthone tự nhiên được báo cáo là có nhiều tác dụng khác nhau, bao gồm kháng khuẩn, chống virus, thuốc bảo vệ gan, thuốc chống sốt rét, chống ung thư... Hiện nay, xanthone đang được nghiên cứu và đã cho thấy tác dụng chống tiểu đường trên một số mục tiêu [3].

Docking là một phương pháp dự đoán sự liên kết của một phân tử với phân tử thứ hai để tạo thành một phức hợp ổn định với năng lượng liên kết thấp nhất. Ưu điểm của phương pháp này là có thể dự đoán cấu trúc phối tử; vùng hoạt động, vị trí và cấu hình của protein với độ chính xác khá

cao và tiết kiệm nhiều chi phí, thuận lợi cho việc thiết kế thuốc.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mô hình docking

Chuẩn bị cấu trúc protein: Cấu trúc tinh thể AG có trong củ cải đường với acarbose (ID: 3W37) được lấy từ cơ sở dữ liệu RCSB (<https://www.rcsb.org/>). 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 thông qua phần mềm MGL Autodock Tools 1.5.7. Vùng hoạt động của 3W37 được lựa chọn bởi hộp lưới có kích thước 60Å x 60Å x 70Å với tọa độ trục lần lượt là $x = 14,310$; $y = -27,101$; $z = -42,876$.

Chuẩn bị cấu trúc phối tử: 133 hợp chất xanthone được tải về từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) và lưu ở định dạng sdf sau đó được tối ưu hóa năng lượng và chuyển thành định dạng pdb bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate Gradients) rồi chuyển thành định dạng pdbqt bằng phần mềm Autodock Tools.

Thực hiện docking phân tử: Sử dụng phần mềm Autodock Tools, docking protein với chất đối chứng là acarbose (ID: 41774) tải về từ cơ sở dữ liệu PubChem.

Đánh giá kết quả docking

Để đánh giá kết quả docking, phối tử đồng kết tinh sau khi tách ra sẽ được re-dock lại vào vị trí hoạt động của protein mục tiêu. Giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) nhỏ hơn 1,5 Å được dùng để đánh giá độ tin cậy của quá trình docking [4].

Đánh giá quy tắc Lipinski 5 và dự đoán ADMET

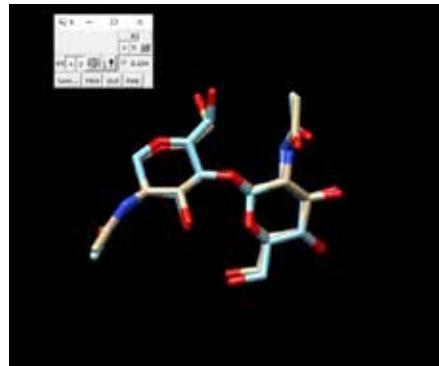
Quy tắc Lipinski 5 tiêu chí được sử dụng để đánh giá các đặc tính giống thuốc của một hợp

chất và khả năng thuốc đó đáp ứng được các tiêu chí của một dược chất đường uống. Để đánh giá quy tắc Lipinski 5, chúng tôi sử dụng công cụ online (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>). Sau khi lựa chọn được các hợp chất giống thuốc, tiếp tục tiến hành phân tích các thông số dược động học và độc tính để cho ra kết quả cuối cùng. Chúng tôi sử dụng công cụ trực tuyến pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) để dự đoán các đặc tính dược động học và độc tính với dữ liệu đầu vào là công thức SMILES của các hợp chất.

KẾT QUẢ

Đánh giá mô hình docking

Để đánh giá độ tin cậy của quá trình docking, chúng tôi tiến hành re-dock phối tử đồng kết tinh vào lại vị trí hoạt động của protein mục tiêu bằng phần mềm Chimera. Kết quả thu được giá trị RMSD là 0,654 Å. Giá trị này thỏa mãn điều kiện $RMSD < 1,5 \text{ \AA}$; chứng tỏ quá trình docking là đáng tin cậy (Hình 1).



Hình 1. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh với AG



Hình 2. Minh họa hai chiều các tương tác của acarbose với AG tại vị trí hoạt động

Acarbose ($IC_{50} = 22,80 \mu\text{M}$) là thuốc ức chế AG đường uống đã được kê đơn rộng rãi để điều trị bệnh ĐTĐ type 2 và thường được sử dụng kết hợp với các thuốc điều trị ĐTĐ khác để tăng tác dụng [5]. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi so sánh năng lượng gắn kết của các hợp chất tiềm năng với acarbose để đánh giá khả năng ức chế AG của chúng. Kết quả docking chất đối chứng acarbose cho năng lượng liên kết ΔG là $-8,1 \text{ kcal/mol}$. Acarbose tạo liên kết hydro với các acid amin như THR681, GLU301, ARG720,

liên kết C-H với PHE682 và ion kẽm tại vị trí hoạt động (Hình 2). Điểm số docking $-8,1 \text{ kcal/mol}$ được dùng làm cơ sở để sàng lọc các hợp chất tiềm năng.

Kết quả quá trình docking các hợp chất xanthone với protein mục tiêu

Sau khi xây dựng và đánh giá mô hình docking, chúng tôi tiến hành sàng lọc 133 hợp chất xanthone để đánh giá khả năng ức chế enzym AG. Bảng 1 là kết quả của 23 hợp chất có năng lượng liên kết (ΔG) thấp hơn chất đối chứng là acarbose ($\Delta G = -8,1 \text{ kcal/mol}$).



Bảng 1. Kết quả docking 23 hợp chất và chất đối chứng với enzym AG

STT	Tên hợp chất	Năng lượng (kcal/mol)	STT	Tên hợp chất	Năng lượng (kcal/mol)
0	Acarbose	-8,1	12	Isogarciniaxanthone E	-8,2
1	Mangiferin	-8,4	13	Butyraxanthone B	-8,4
2	Neomangiferin	-8,4	14	7-O-Methylmangiferin	-8,2
3	Polygalaxanthone III	-8,7	15	Bijaponicaxanthone C	-8,3
4	Mangostanol	-8,3	16	7-Prenyljacareubin	-8,8
5	Garciniaxanthone E	-8,5	17	Pyranojacareubin	-9,4
6	Isonormangostin	-8,4	18	Parvifolixanthone A	-8,1
7	Cudraxanthone L	-8,3	19	Formoxanthone A	-8,1
8	BR-Xanthone A	-8,7	20	Isojacareubin	-8,2
9	Griffipavixanthone	-10,9	21	Homomangiferin	-8,3
10	Nigrolineaxanthone V	-8,2	22	Rheediaxanthone A	-9,1
11	Cudraxanthone B	-8,3	23	Neolancerin	-8,1

Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski

Một hợp chất được gọi là “giống thuốc” khi chúng đáp ứng ít nhất 2 trong 5 tiêu chí của quy tắc Lipinski: khối lượng phân tử <500 Da; có tính ưa dầu cao ($\log P < 5$); ít hơn 5 nhóm cho liên kết hydrogen; ít hơn 10 nhóm nhận liên kết hydrogen; độ khúc xạ mol nằm trong khoảng 40-130. Bảng 2 là kết quả của 15 trong 23 chất thỏa mãn quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski. Tiếp theo, 15 hợp chất này được đánh giá các đặc tính về dược động học - độc tính bằng dự đoán ADMET.

Bảng 2. Kết quả các thông số quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski của 15 hợp chất thỏa mãn

STT	Tên hợp chất	Phân tử khối	Số nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Số nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	LogP	MR
1	Mangostanol	426,0	3	7	4,0262	113,82
2	Garciniaxanthone E	464,0	4	6	6,5896	132,31
3	Isonormangostin	396,0	2	6	4,6417	105,78
4	Cudraxanthone L	396,0	4	6	4,8180	109,41
5	BR-Xanthone A	396,0	2	6	4,6417	105,78
6	Nigrolineaxanthone V	408,0	2	6	5,1360	113,15
7	Cudraxanthone B	394,0	3	6	4,7879	108,35

8	Isogarciniaxanthone E	464,0	4	6	6,3718	132,45
9	Butyraxanthone B	462,0	3	6	6,3417	131,40
10	7-Prenyljacareubin	394,0	3	6	4,8330	108,26
11	Pyranojacareubin	392,0	2	6	4,8029	107,20
12	Parvifolixanthone A	464,0	4	6	6,3718	132,45
13	Formoxanthone A	394,0	3	6	4,8330	108,26
14	Isojacareubin	326,0	3	6	3,3243	85,130
15	Rheediaxanthone A	392,0	2	6	4,8029	107,20

Đánh giá ADMET

Phân tích ADMET dựa trên 5 thông số chính về: Hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính thu được 4 chất có các đặc tính tốt nhất là mangostanol, isonormangostin, cudraxanthone B và isojacareubin. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Bảng đánh giá ADMET

Đặc tính		Mangostanol	Isonormangostin	Cudraxanthone B	Isojacareubin
Hấp thu	Tính thấm màng Caco2 (log Papp trong 10 ⁻⁶ cm/s)	0,534	1,232	0,484	0,178
	Hấp thu ở ruột HIA (%)	87,526	95,43	100	90,588
Phân bố	Thể tích phân bố VDss (log l/kg)	0,564	0,587	0,003	0,486
	Tính thấm BBB (logBB)	-1,243	-0,156	-1,091	-1,256
	CNS (logPS)	-2,884	-1,74	-1,935	-2,185
Chuyển hóa	Ức chế CYP2D6	Không	Không	Không	Không
	Ức chế CYP3A4	Không	Không	Không	Không
Thải trừ	Độ thanh thải toàn phần (log ml/min/kg)	-0,18	-0,32	0,356	0,349
Độc tính	Độc tính AMES	Có	Không	Không	Có
	Độc tính hERG	Có	Có	Có	Không
	Độc tính gan	Không	Không	Không	Không
	Kích ứng da	Không	Không	Không	Không

Về hấp thu, một hợp chất được coi là có khả năng hấp thu tốt khi có tính thấm qua màng Caco2 cao (>0,9 log Papp trong 10⁻⁶ cm/s) và khả năng

hấp thu ở ruột (HIA) tốt (>90%). Bảng 3 cho thấy chỉ có isonormangostin thể hiện tính thấm tốt qua màng Caco2 (1,232 log Papp trong 10⁻⁶ cm/s). Tất

Bảng 4. Kết quả phân tích mô phỏng docking

Tên hợp chất	ID	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	Acid amin tạo liên kết
Mangostanol	10048103	-8,3	ASN668, ARG313, PRO316, MET801, ARG536, LYS560, PRO316
Isonormangostin	91884715	-8,4	ARG313, ASN668, PRO316, MET801, ASP802, LYS560
Cudraxanthone B	91885224	-8,3	ARG699, PHE682, ARG720, PRO682
Isojacareubin	9996463	-8,2	ASP684, ARG720, TYR717, GLY738, ASP685
Acarbose	41774	-8,1	GLU301, ARG720, TYR717, ASP684, THR681, PHE682, ARG699, PRO683

Xét về khả năng tạo tương tác, các hợp chất đều liên kết tốt tại vị trí hoạt động của α -glucosidase khi tương tác với 5 acid amin trở lên. Trong 4 hợp chất, cudraxanthone B và isojacareubin cho thấy có nhiều sự tương đồng với acarbose ở các liên kết với các acid amin quan trọng như ARG699, PHE682, ARG720, ASP684, TYR717. Xét về giá trị điểm tương tác, isonormangostin cho thấy kết quả tốt nhất (-8,4 kcal/mol), thể hiện phức hợp giữa cơ chất và enzym có khả năng ổn định cao nhất, điều này phù hợp với việc chất này tạo được nhiều liên kết bền vững với các acid amin tại trung tâm hoạt động.

BÀN LUẬN

Mangostanol, một loại xanthone prenyl có trong vỏ của quả măng cụt (*Garcinia mangostana* L.). Hiện nay, chưa có nghiên cứu thực nghiệm đối với tác dụng ức chế AG của mangostanol. Vì vậy, mặc dù có khả năng tương tác tốt với enzym đích và có những đặc tính giống thuốc, nhưng cũng cần có những nghiên cứu sâu hơn về độc tính của mangostanol đối với cơ thể người. Isonormangostin được phân lập từ quả chín của cây *G. dulcis*, được biết đến là một cây thuốc dân

gian có tác dụng chống viêm, điều trị viêm bạch huyết, viêm tuyến mang tai và viêm túi lệ. Trong nghiên cứu này, isonormangostin được dự đoán có thể thấm qua hàng rào máu não và hệ thần kinh trung ương. Vì vậy, cần có những đánh giá sâu hơn trên thực nghiệm để chứng minh tác dụng cũng như khả năng trở thành thuốc của hợp chất này. Cudraxanthone B được phân lập từ chiết xuất của cây *Cudrania cochinchinensis* Lour (*Moraceae*). Đây là dược liệu cổ truyền của Trung Quốc, được dùng để điều trị bệnh lậu, thấp khớp, mụn nhọt. Trong nghiên cứu này, cudraxanthone B cho thấy khả năng liên kết với AG với điểm docking là -8,3 kcal/mol, và có thể đi vào hệ thần kinh trung ương. Vì vậy, cần tiến hành nhiều nghiên cứu về tác dụng ức chế AG của cudraxanthone B và các đánh giá sâu hơn về tác động của nó trên hệ thần kinh. Isojacareubin có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào HeLa-C3, chống lại các tế bào ung thư khác nhau, bao gồm cả tế bào ung thư biểu mô gan HepG2 [6]. Isojacareubin có thể hấp thu tốt qua ruột (90,588%), không ức chế các enzym chuyển hóa tại gan và không gây ra các độc tính trên tim, gan, da; cho thấy tiềm năng phát triển thành thuốc.



KẾT LUẬN

Từ kết quả sàng lọc 133 hợp chất ban đầu, chúng tôi đã tìm ra 4 hợp chất thỏa mãn tiêu chuẩn quy tắc 5 Lipinski và dự đoán đặc tính dược động học – độc tính tốt nhất là: mangostanol, isonormangostin, cudraxanthone B và isojacareubin. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* để phát triển những hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị ĐTĐ type 2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Williams, R., et al.**, *Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas*. Diabetes research and clinical practice, 2020. **162**: p. 108072.
- 2. Huang, Q., et al.**, *Xanthone glucosides: Isolation, bioactivity and synthesis*. Molecules, 2021. **26**(18): p. 5575.
- 3. Ahmadi, S., et al.**, *SMILES-based QSAR and molecular docking study of xanthone derivatives as alpha-glucosidase inhibitors*. J Recept Signal Transduct Res, 2022. **42**(4): p. 361-372.
- 4. Gohlke, H., M. Hendlich, and G. Klebe**, *Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions*. Journal of molecular biology, 2000. **295**(2): p. 337-356.
- 5. Hanefeld, M. and F. Schaper**, *Acarbose: oral anti-diabetes drug with additional cardiovascular benefits*. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2008. **6**(2): p. 153-63.
- 6. Yuan, X., et al.**, *Inhibition of protein kinase C by isojacareubin suppresses hepatocellular carcinoma metastasis and induces apoptosis in vitro and in vivo*. Scientific reports, 2015. **5**(1): p. 1-13.