

Sàng lọc các hợp chất ức chế enzym protein tyrosin phosphatase 1B của cây Vối (*Cleistocalyx operculatus*) bằng phương pháp docking phân tử

Nguyễn Hồng Nhung, Tạ Thị Thu Hằng, Vũ Khánh Linh, Bùi Thanh Tùng
Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Đái tháo đường là một bệnh mãn tính phức tạp, đặc trưng bởi nồng độ glucose tăng cao trong máu, xảy ra do sự thiếu hụt bài tiết insulin từ tế bào β đảo tụy hoặc khả năng hoạt động của insulin. Protein tyrosin phosphatase 1B (PTP1B) xúc tác quá trình loại bỏ nhóm phosphate từ phosphotyrosin của thụ thể insulin do đó làm giảm tác dụng của insulin tới các mô đích. Vì vậy, ức chế enzym này là phương pháp hiệu quả để điều trị bệnh đái tháo đường. Cây vối (*Cleistocalyx operculatus*) được chứng minh là có tác dụng trong điều trị bệnh đái tháo đường. **Mục tiêu:** Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng ức chế enzym PTP1B của các hợp chất trong cây vối bằng phương pháp docking phân tử. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Cấu trúc protein tyrosin protease 1B được lấy từ Protein Data Bank. Các hợp chất được thu thập từ các tài liệu về thành phần hóa học của cây Vối và các cấu trúc này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem. Docking phân tử được thực hiện bằng phần mềm Autodock vina. Quy tắc Lipinski 5 được sử dụng để so sánh giữa các hợp chất có đặc tính giống thuốc và không giống thuốc. Thông số dược động học của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM. **Kết quả:** Dựa trên các công bố trước đây về cây vối, chúng tôi thu thập được 62 hợp chất. Kết quả cho thấy có 4 hợp chất có tác dụng ức chế PTP1B mạnh hơn cả chứng dương là abieta-7,13-diene, kaempferol, quercetin, luteolin. Phân tích quy tắc Lipinski 5 cho thấy cả 4 hợp chất đều có đặc tính giống thuốc. Ngoài ra, kết quả dự đoán thông số dược động học cho thấy các hợp chất có khả năng hấp thu ở ruột rất tốt và độc tính thấp. **Kết luận:** Do đó, các hợp chất như kaempferol, quercetin, luteolin, abieta-7,13-diene là các hợp chất tiềm năng trở thành thuốc điều trị bệnh đái tháo đường từ cây Vối.

Từ khóa: Cây vối, protein tyrosine phosphatase 1B, đái tháo đường, in silico, molecular docking.

Abstract

Screening natural product compounds from *Cleistocalyx operculatus* for protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity by using molecular docking method

Nguyen Hong Nhung, Ta Thi Thu Hang, Vu Khanh Linh, Bui Thanh Tung
VNU University of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University Hanoi, Vietnam

Background: Diabetes mellitus is a complex chronic disease. It is characterized by high level of glucose in the blood, caused by deficiency in insulin secretion from the β pancreatic's cells or the operability of insulin. The protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) catalyzes in order to remove of the phosphate group from the insulin receptor's phosphotyrosine, so it reduces the effects of insulin on target tissues. Therefore, inhibiting this enzyme is an effective method to treat diabetes mellitus. *Cleistocalyx operculatus* has been shown to be effective with the treatment of diabetes mellitus. **Objectives:** In this study, we evaluated the inhibitory effects of PTP1B enzyme of *Cleistocalyx operculatus*'s compounds by using molecular docking method. **Materials and Methods:** The protein tyrosin protease 1B structure was obtained from Protein Data Bank. Compounds were collected from the publication of *Cleistocalyx operculatus* and these structures were obtained from the PubChem database. Molecular docking was done by Autodock vina software. Lipinski Rule of Five is used to compare compounds with drug-like and non-drug-like properties. Pharmacokinetic parameters of potential compounds were evaluated using the pkCSM tool. **Results:** Based on previous publication of *Cleistocalyx operculatus*, we have collected 62 compounds. The results showed that there are 4 compounds have PTP1B inhibitory effect stronger than the positive control

including abieta-7,13-diene, kaempferol, quercetin, luteolin. Analysing Lipinski rule of five showed that all 4 compounds have drug-likeness properties. Moreover, predict ADMET showed that these compounds have good intestinal absorption and low toxicity. **Conclusion:** Therefore, kaempferol, quercetin, luteolin and abieta-7,13-diene may be potential natural product compound for diabetes treatment.

Key words: *Cleistocalyx operculatus*, protein tyrosine phosphatase 1B, diabetes mellitus, in silico, molecular docking.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường là một bệnh mãn tính phức tạp, đặc trưng bởi nồng độ glucose tăng cao trong máu, xảy ra do khả năng bài tiết hoặc khả năng hoạt động của insulin bị giảm [1]. Đái tháo đường gây ra rối loạn chức năng của một số cơ quan như mắt, thận, não, thần kinh, tim, mạch máu [2]. Theo Hiệp hội Đái tháo đường quốc tế, cứ 11 người trưởng thành (20-79 tuổi) thì có 1 người mắc bệnh đái tháo đường và cũng theo ước tính thì khoảng 4,2 triệu người chết do bệnh đái tháo đường và biến chứng của nó vào năm 2019 [3]. Tỷ lệ mắc bệnh đái tháo đường ở Việt Nam khoảng 5,76 triệu người chiếm xấp xỉ 6% dân số (số liệu năm 2017 [4]).

Protein tyrosin phosphatase 1B (PTP1B) là một enzym thuộc họ enzym protein tyrosin phosphatase, biểu hiện ở nhiều mô khác nhau như mô gan, não, mô cơ. PTP1B xúc tác quá trình loại bỏ nhóm phosphate từ phosphotyrosin của thụ thể insulin do đó làm giảm tác động của insulin tới các mô đích [5]. Ngoài ra, PTP1B còn làm giảm tín hiệu của leptin gây ra trạng thái béo phì và rối loạn chuyển hóa [5]. Trong những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng sự biểu hiện quá mức của PTP1B trong bệnh nhân mắc đái tháo đường và béo phì [6]. Do đó ức chế enzym PTP1B không những giúp tăng hoạt động của insulin mà còn giúp làm giảm tình trạng béo phì, một yếu tố nguy cơ quan trọng đối với bệnh đái tháo đường [7].

Cây vối có tên khoa học là *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry thuộc họ Myrtaceae. Ở Việt Nam, nụ vối, lá vối được sử dụng để pha trà uống rất phổ biến từ thời xa xưa. Tinh dầu của lá vối được chứng minh có nhiều tác dụng dược lý như tính kháng khuẩn, khả năng chống oxy hóa, kháng viêm... [8, 9]. Nghiên cứu của tác giả Trương Tuyết Mai cho thấy cao chiết nước nụ vối có tác dụng ức chế hoạt động hai enzym maltase và sucrase với giá trị IC_{50} lần lượt là 0,70 mg/ml và 0,47 mg/ml *in vitro* [10]. Nụ vối được đánh giá có tác dụng chống oxy hóa và giảm sự tích tụ của sorbitol trong thủy tinh thể và hạ natri máu bên cạnh tác dụng chống đái tháo đường [11].

Docking phân tử là một kỹ thuật mô hình hóa với mục đích dự đoán vị trí và cấu hình thuận lợi mà phân tử cơ chất (ligand) có thể liên kết với phân

tử protein (target). Phân tử cơ chất được cho dịch chuyển trong không gian bao quanh phân tử protein để tìm vị trí có năng lượng gắn kết âm nhất sử dụng các hàm đánh giá và phương pháp tìm kiếm cực trị toàn cục khác nhau. Từ đó có thể tìm ra được những hợp chất có tác dụng tốt trên protein [12]. Phương pháp docking phân tử này giúp tiết kiệm thời gian và chi phí hơn nhiều trong việc sàng lọc các hợp chất so với các phương pháp thực nghiệm [13].

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mô hình docking

- **Chuẩn bị cấu trúc protein:** Cấu trúc đồng tinh của phức hợp protein tyrosin protease 1B và 4-bromo-3-(carboxymethoxy)-5-[3-(cyclohexylamino)phenyl]thiophene-2-carboxylic acid (pdb file) được download từ Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/>) với ID: 2QBS. Quá trình chuẩn bị thực hiện các bước: loại bỏ phân tử nước, tách cấu trúc đồng tinh thể ra khỏi protein.

- **Chuẩn bị cấu trúc phối tử:** Các cấu trúc của phối tử được thu thập từ các tài liệu về thành phần hóa học của cây vối và các cấu trúc này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sau đó, chúng được gắn trường lực và tối thiểu hóa năng lượng sử dụng phần mềm Avogadro.

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

- **Đánh giá kết quả docking:** Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử từ đồng tinh thể đã được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu. Quá trình được thực hiện thành công nếu giá trị căn bậc hai bình phương trung bình gốc RMSD (Root mean square deviation) nhỏ hơn hoặc bằng 1.5 Å. Đối với các chất cần docking, khả năng gắn kết của chúng được đánh giá thông qua tương tác với các acid amin trong vùng hoạt động và năng lượng tương tác tính bởi hàm tính điểm (scoring function) của Autodock vina.

Đánh giá quy tắc Lipinski 5

Quy tắc Lipinski 5 được sử dụng để so sánh giữa các hợp chất có đặc tính giống thuốc và không giống thuốc [14]. Chúng tôi sử dụng công cụ online (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/>

lipinski.jsp) để đánh giá quy tắc Lipinski 5 [15]. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được tải từ cơ sở dữ liệu Pubchem (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

Dự đoán các thông số dược động học

Kết quả dự đoán các thông số về dược động học bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính (ADMET) của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>) [16].

3. KẾT QUẢ

Chuẩn bị cấu trúc phối tử

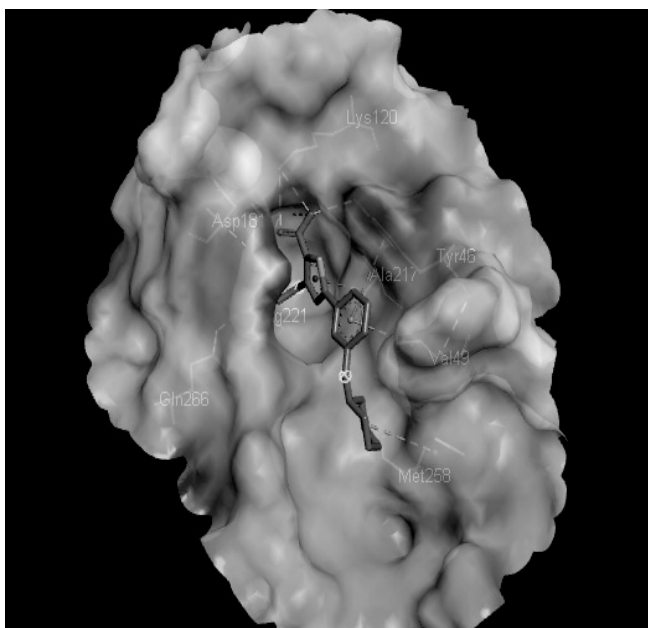
Dựa trên các công bố trước đây, nhóm nghiên cứu tập hợp được 62 hợp chất có trong cây với (*Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry) [8, 17, 18]. Cấu trúc 3D của những hợp chất này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem ở định dạng sdf sau đó chuyển thành định dạng pdb bằng phần mềm Chimera. Tiếp theo, các phối tử được tối thiểu hóa năng lượng bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp

(Conjugate Gradients) rồi chuyển thành định dạng pdbqt bằng phần mềm Autodock Tools.

Chuẩn bị protein

Cấu trúc tinh thể của phức hợp chất ức chế PTP1B với ID: 2QBS được thu thập từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB (www.rcsb.org). Trong phức hợp 2QBS đã chứa sẵn ligand đồng kết tinh là 4-BROMO-3-(CARBOXYMETHOXY)-5-[3-(CYCLOHEXYLAMINO)PHENYL] THIOPHENE-2-CARBOXYLIC ACID.

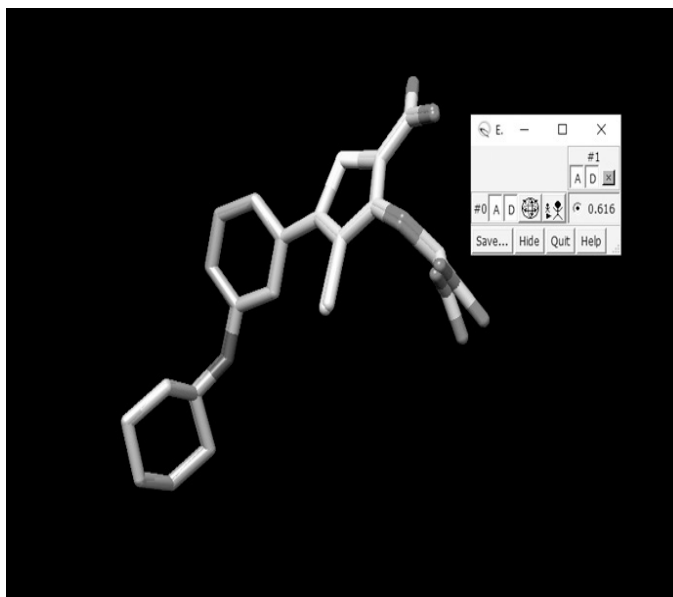
Sau khi được tải về từ ngân hàng RCSB, phân tử phối tử đồng kết tinh và các phân tử nước sẽ được tách ra khỏi phức hợp bằng phần mềm Discovery Studio 2020 Client, các nguyên tử hydro sẽ được thêm vào trước khi tái lập vùng hoạt động của enzym bằng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. Vùng hoạt động của enzym được bao bọc bởi một hộp lưới có kích thước 60Å×60Å×46Å, center x = 46,535, center y = 16,643, center z = 5,369. Sau đó lưu protein dưới định dạng pdbqt để chuẩn bị cho quá trình docking.



Hình 1. Vùng hoạt động của PTP1B

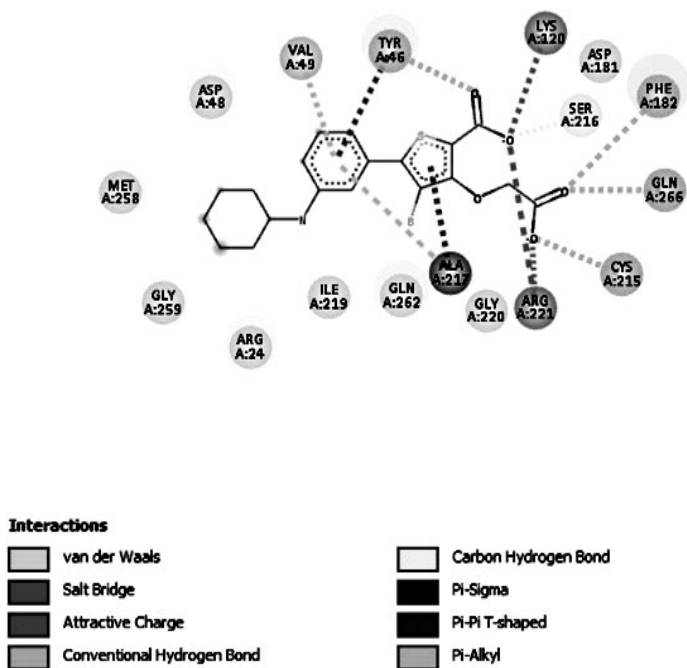
Đánh giá mô hình docking

Trước khi sàng lọc các hợp chất, phối tử đồng kết tinh được tách ra khỏi phức hợp 2QBS rồi được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu để xác định độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) từ đó đánh giá tính phù hợp của các thông số docking. Kết quả sau khi docking lại phối tử đồng kết tinh thu được giá trị RMSD là 0,616 Å. Giá trị này thỏa mãn điều kiện RMSD nhỏ hơn 1.5 Å chứng tỏ kết quả docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy.



Hình 2. Kết quả re-dock của phối tử đồng kết tinh

Sự tương tác giữa phối tử đồng kết tinh và PTP1B được thể hiện như trong hình 3. Từ hình ta có thể thấy được phối tử đồng kết tinh hình thành liên kết với nhiều acid amin như: liên kết π -alkyl, π - σ với ALA217; liên kết hydro với TYR46, ASP181, GLN266; π - π với TYR46 và liên kết với nhiều acid amin khác như: MET258, ARG221, LYS120.



Hình 3. Biểu diễn tương tác 2D của ligand đồng kết tinh với PTP1B.

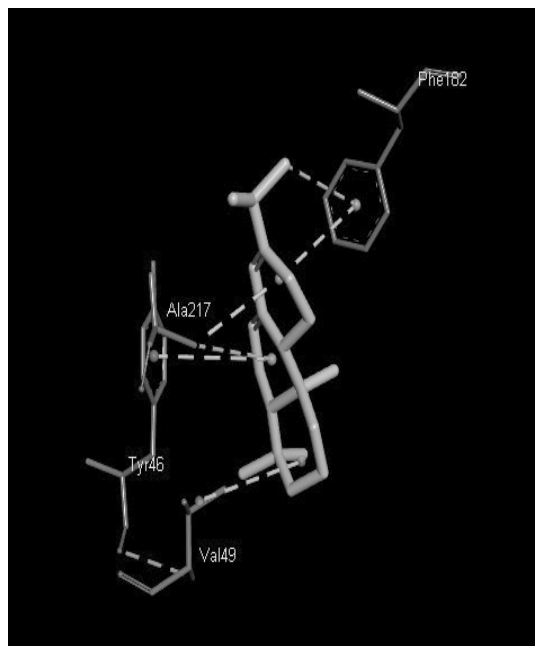
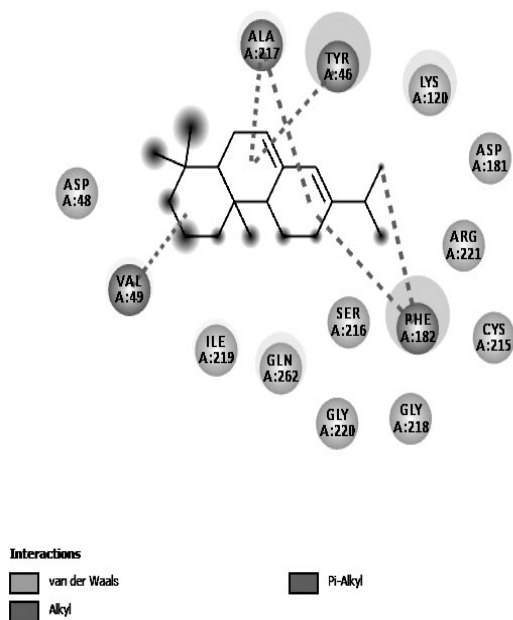
Sàng lọc chất ức chế PTP1B trong cây vối

Sau khi chuẩn bị các phối tử, tiến hành docking toàn bộ 62 hợp chất có trong cây vối và enzyme PTP1B để tìm kiếm các hợp chất có khả năng ức chế PTP1B. Kết quả thu được ở bảng 1.

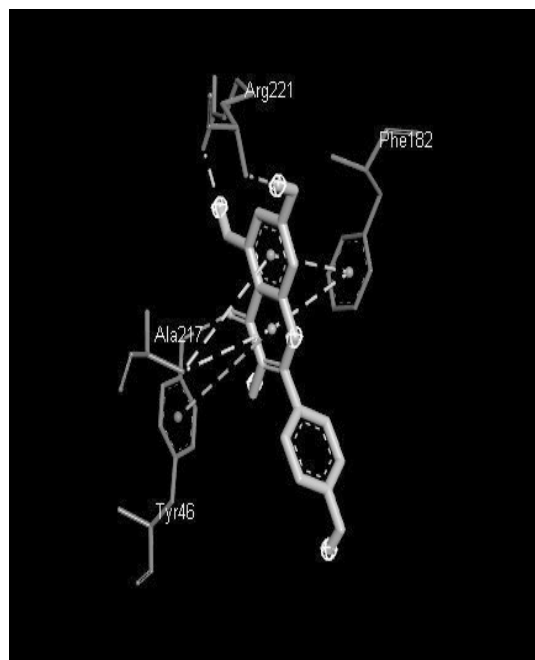
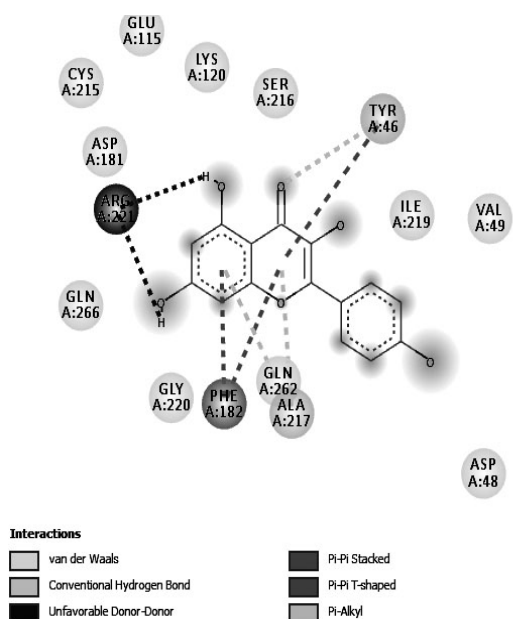
Bảng 1. Kết quả docking các phân tử hợp chất vào đích PTP1B với mức năng lượng liên kết tương ứng.

STT	Tên	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	STT	Tên	Năng lượng liên kết (kcal/mol)
1	α -Pinene	-5,1	33	α -Santalol acetate	-6,6
2	Camphene	-5,4	34	Vetivone	-7,3
3	β -Pinene	-4,8	35	Ethyl hexadecanoate	-5,3
4	Myrcene	-5,6	36	Rimuene	-6,4
5	α -Terpinene	-6,6	37	Cembrene	-6,8
6	Limonene	-6,4	38	16-Kaurene	-6,5
7	γ -Terpinene	-6,5	39	Abieta-7,13-diene	-9,1
8	cis-Linalool oxide	-4,9	40	1-Hexanol	-4,3
9	cis-Verbenol	-4,9	41	5,7,-Dimethylocta-1,6-diene	-5,2
10	Isomenthene	-5,4	42	3-Methylbutyl isobutyrate	-5,5
11	Terpinen-4-ol	-5,6	43	Lavender lactone	-6,1
12	trans-Dihydrocarvone	-7,0	44	Benzyl benzoate	-7,5
13	trans-Carveol	-6,5	45	3'-formyl-4',6'-dihydroxy-2'-methoxy-5'-methylchalcone	-7,4
14	Nerol	-5,7	46	(2S)-8-formyl-5-hydroxy-7-methoxy-6-methylflavanone	-7,3
15	Lavandulyl acetate	-5,5	47	β -sitosterol	-7,2
16	cis-Carvyl acetate	-6,9	48	7-hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavanone	-7,9
17	Geranyl acetate	-5,9	49	Axit ursolic	-7,3
18	Methyl jasmonate	-6,0	50	4-hydroxy-2,2,5-trimethylcyclopent-4-ene-1,3-dione	-6,0
19	Presilphiperfol-I-ene	-6,1	51	Axit 4'-dihydrophaseic	-6,0
20	α -Copaene	-6,7	52	Axit Oleanolic	-7,7
21	Sesquithujene	-7,0	53	Axit Maslinic	-7,0
22	β -Cedrene	-6,9	54	Kaempferol	-8,5
23	6-Epi- β -cubene	-6,7	55	Quercetin	-8,5
24	γ -Muurolene	-6,8	56	Luteolin	-8,5
25	γ -Amorphene	-6,3	57	2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone	-6,8
26	Cyclobazzanene	-5,9	58	4-hydroxybenzoic acid	-6,1
27	α -Cadinene	-7,6	59	Methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate	-6,1
28	Marsupellol	-5,4	60	4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid	-6,3
29	Globulol	-5,8	61	3-hydroxy-3-phenylpropanoic acid	-6,8
30	β -Himachalol	-6,2	62	Cinnamic acid	-6,8
31	Acorenol	-5,5		Ligand đồng kết tinh	-8,1
32	trans-Nuciferol	-6,6		Troscuquimine (chất chống dương)	-5,9

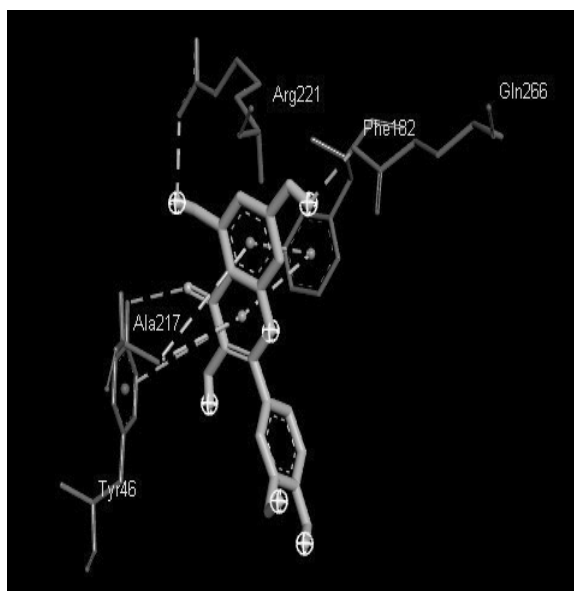
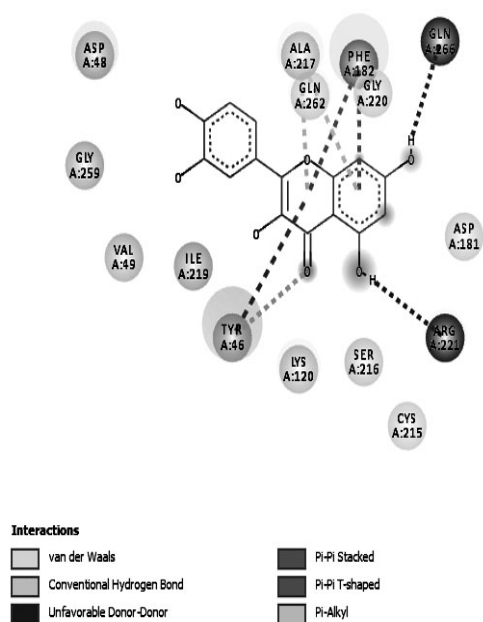
Chúng tôi sử dụng trodusquemine (MSI-1436) là một chất chứng dương, một chất được chứng minh là ức chế chọn lọc enzyme PTP 1B với giá trị $IC_{50} \sim 1 \mu\text{mol/l}$ [19]. So sánh năng lượng liên kết của chất chứng dương với 62 hợp chất, chúng tôi thu được 43/62 chất có năng lượng liên kết tự do thấp hơn cả chất chứng dương nhưng chúng tôi lựa chọn 4 hợp chất tối ưu nhất đó là abieta-7,13-diene với năng lượng là -9,1 kcal/mol; kaempferol, quercertin, luteolin với mức năng lượng đều là -8,5 kcal/mol. Tương tác giữa 4 hợp chất với đích PTP1B được biểu diễn 2D và 3D trong hình 4.



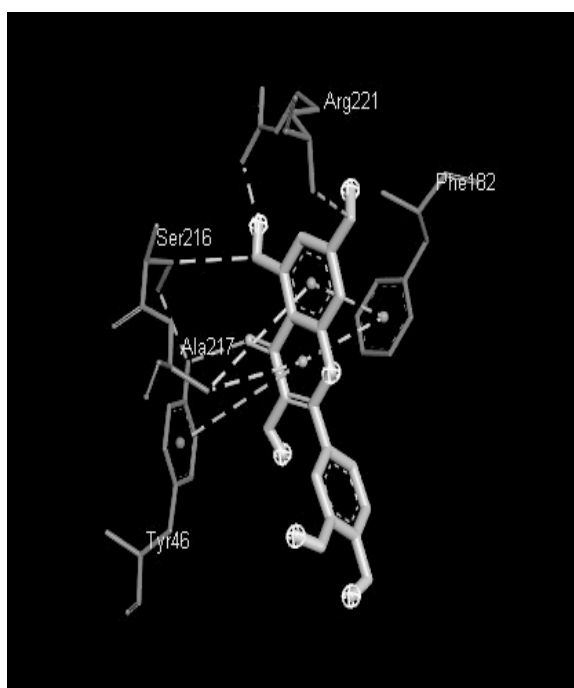
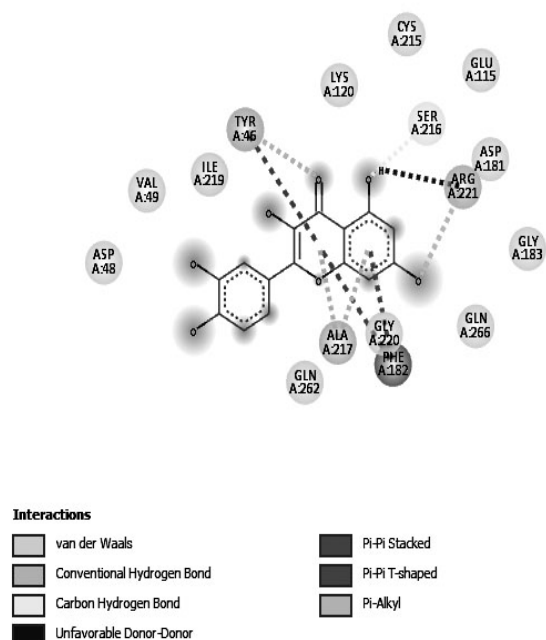
a) Abieta-7,13-diene



b) Kaempferol



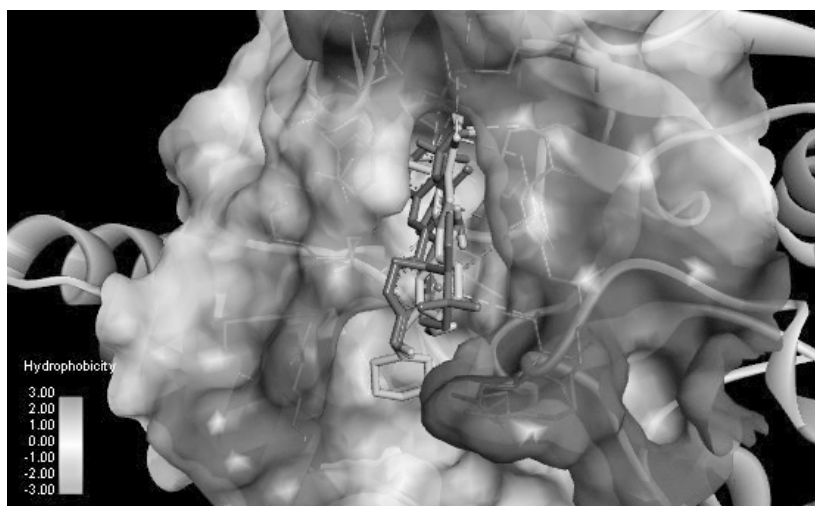
c) Quercetin



d) Luteolin

Hình 4. Sự tương tác của 4 phân tử Abieta-7,13-diene (hình 3a), Kaempferol (hình 3b), Quercetin (hình 3c), Luteolin (hình 3d) với PTP1B biểu diễn 2D và 3D.

Khả năng liên kết với đích PTP1B của cả 4 phân tử đều có sự tương đồng với phối tử đồng tinh thể. Điều đó được thể hiện qua khả năng liên kết với các acid amin VAL49, TYR46, ARG221, đặc biệt là liên kết π -alkyl với ALA217. Ngoài ra, cả 4 phân tử đều có tương tác π -alkyl hoặc π - π với PHE182, đây có thể là lý do mức năng lượng của cả 4 chất đều thấp hơn so với phối tử đồng tinh thể.



Hình 5. Hình ảnh biểu diễn hướng tương tác của 4 hợp chất tiềm năng và phối tử đồng kết tinh trong “vùng hoạt động của PTP1B

Kết quả quy tắc lipinski 5

Các hợp chất được gọi là “giống thuốc” khi chúng đáp ứng ít nhất 2 trong 5 các tiêu chí của qui tắc Lipinski: (1) Khối lượng phân tử < 500 Da; (2) Có tính ưa dầu cao (LogP nhỏ hơn 5); (3) Không có nhiều hơn 5 nhóm cho liên kết hydrogen; (4) Không có nhiều hơn 10 nhóm nhận liên kết hydrogen; (5) Độ khúc xạ mol phải nằm trong khoảng 40-130. Kết quả đáp ứng quy tắc Lipinski 5 của bốn hợp chất trên được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá quy tắc lipinski 5

STT	Hợp chất	Trọng lượng phân tử	Nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	logP	Độ khúc xạ mol (MR)	Hợp chất giống thuốc
1	Abieta-7,13-diene	272	0	0	6.141	87.57	Có
2	Kaempferol	286	4	6	2.305	72.38	Có
3	Quercetin	302	5	7	2.011	74.05	Có
4	Luteolin	286	4	6	2.125	72.47	Có

Từ bảng 2 ta thấy cả 4/4 chất đánh giá Lipinski đều thỏa mãn lớn hơn hoặc bằng 2 tiêu chuẩn trong quy tắc Lipinski 5. Đặc biệt, kaempferol, quercetin và luteolin thỏa mãn cả 5 tiêu chí, abieta-7,13-diene cũng thỏa mãn 4 tiêu chí, cho thấy đặc tính giống thuốc rất cao. Chính vì vậy, chúng tôi tiếp tục khảo sát các thông số dược động học: hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ, và độc tính của 4 chất này.

Đánh giá ADMET (hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ, độc tính)

Để đánh giá hiệu quả của 4 hợp chất trên, chúng tôi tiếp tục đánh giá quá trình ADMET sử dụng phần mềm pkCSM. Kết quả dự đoán ADMET gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ, độc tính được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đánh giá ADMET

Thông số	Abieta-7,13-diene	Kaempferol	Quercetin	Luteolin
Hấp thu				
Tan trong nước (log mol/L)	-7,26	-3,04	-2,925	-3,094
Tính thấm màng Caco2 (log P _{app} trong 10 ⁻⁶ cm/s)	1,42	0,03	-0,229	0,096
Hấp thu ở ruột (người)(%)	93,02	74,29	77,207	81,130

Phân bố				
Thể tích phân bố (người) (log L/kg)	0,79	1,27	1,559	1,153
Tính thấm BBB (blood brain barrier) (log BB)	0,81	-0,94	-1,098	-0,907
Chuyển hóa				
Cơ chất CYP2D6	Không	Không	Không	Không
Cơ chất CYP3A4	Có	Không	Không	Không
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)	0,715	0,477	0,407	0,495
Độc tính				
Độc tính Ames	Không	Không	Không	Không
Độc tính gan	Không	Không	Không	Không
Kích ứng da	Không	Không	Không	Không

Khả năng hấp thu của các hợp chất được phân tích dựa vào các thông số về độ tan trong nước, tính thấm qua màng Caco2, và khả năng hấp thu ở ruột (người). Một hợp chất có tính thấm qua màng Caco-2 cao khi giá trị lớn hơn 0,9. Kết quả bảng 3 cho thấy abieta-7,13-diene có tính thấm Caco2 cao, đều thỏa mãn lớn hơn 0,9. Ngoài ra, chất này cũng cho thấy khả năng hấp thu ở ruột rất tốt (93,02%). Ngoài abieta-7,13-diene, cả 3 chất kaempferol, quercetin, luteolin cũng cho thấy khả năng hấp thu ở ruột tốt (74,29%; 77,207%; 81,13%). Giá trị logBB cho thấy khả năng qua hàng rào máu não tốt khi có giá trị lớn hơn 0,3. Trong 4 chất, chỉ có abieta-7,13-diene là thỏa mãn (logBB= 0,814) cho thấy khả năng qua hàng rào máu não tốt. Hệ cytochrome P450 là hệ enzym quan trọng trong quá trình chuyển hóa thuốc ở gan với hai CYP quan trọng là CYP3A4 và CYP2D6. Về chuyển hóa, chỉ có abieta-7,13-diene là cơ chất của CYP3A4 và cả 4 chất đều cho thấy không ức chế CYP3A4 và CYP2D6, do đó chúng có thể bị chuyển hóa ở gan. Thải trừ thuốc qua thận phụ thuộc vào khối lượng phân tử và tính ưa nước của hợp chất. Cả 6 hợp chất trên đều có khả năng thải trừ qua thận. Về độc tính, thử nghiệm Ames là một phương pháp được sử dụng rộng rãi, sử dụng vi khuẩn để kiểm tra xem một chất có thể gây ra đột biến đến ADN của động vật thử nghiệm hay không, và cả 4 chất đều không có độc tính AMES, cũng không có độc tính trên gan, da.

4. BÀN LUẬN

Abieta-7,13-diene là hợp chất có năng lượng liên

kết với PTP1B thấp nhất (9,1 kcal/mol). Abieta-7,13-diene là một non-phenolic terpenoids có trong tinh dầu được chiết xuất từ nụ cây Vối. Ngô Thị Chinh và các cộng sự đã khảo sát khả năng chống oxi hóa của tinh dầu nụ Vối đã chỉ ra rằng abieta-7,13-diene là một trong những hợp chất quan trọng có tác dụng chống oxi hóa [20].

Cả ba hợp chất kaempferol, quercetin, luteolin đều thuộc nhóm flavonoid có mức năng lượng liên kết bằng nhau 8,5 (kcal/mol). Theo các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng các flavonoid có rất nhiều tác dụng dược lý như cải thiện quá trình chuyển hóa glucose, lipid, điều chỉnh các hormon về trạng thái ổn định [21]. Jian Chen và các cộng sự cũng chỉ ra rằng các flavonoid không những giúp ổn định đường huyết mà còn kiểm soát được những biến chứng của đái tháo đường [22]. Kaempferol và các dẫn xuất glycoside của nó có nhiều tác dụng dược lý như chống viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, điều trị bệnh đái tháo đường... và được chiết xuất từ những dược liệu như *Ginkgo biloba*, *Tilia spp*, *Equisetum spp*, *Moringa oleifera*, *Sophora japonica* và *propolis* [23]. Kaempferol và quercetin được phân lập được từ *Euonymus alatus* tác động lên nhiều mục tiêu để cải thiện tình trạng tăng đường huyết bao gồm làm chất chủ vận một phần của PPAR γ [24]. Peipei Yin và cộng sự đã đưa ra rằng dẫn xuất của ellagic acid và dẫn xuất của kaempferol có tác dụng ức chế α -glucosidase và α -amylase [25]. Quercetin giúp hạ đường huyết bằng cách tăng nhạy cảm của insulin,

tăng tổng hợp glycogen, ức chế hoạt động của α -glucosidase và cải thiện tình trạng kháng insulin [26]. Jinyan Cai và các cộng sự đã chứng minh rằng quercetin được chiết xuất từ cây *Anoectochilus chapaensis* có tác dụng ức chế enzym PTP1B với giá trị IC_{50} là 5,63 μ M đồng thời docking phân tử cho kết quả năng lượng liên kết là -7,5 (kcal/mol) [27]. Ngoài tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường, quercetin còn có tác dụng chống oxy hóa tiềm năng trong điều trị bệnh Alzheimer [28].

Luteolin nổi tiếng với nhiều tác dụng dược lý như: kháng viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, điều trị đái tháo đường... Luteolin được chứng minh cải thiện sự nhạy cảm của insulin và tăng cường quá trình phosphoryl hóa Akt2 trong tế bào thông qua hoạt hóa PPAR γ [29]. Zhang và cộng sự chỉ ra rằng luteolin cản trở sự khởi phát của bệnh cơ tim do đái tháo đường thông qua con đường AKT/GSK 3 β [30]. Ngoài ra, luteolin đã được chứng minh là có thể bảo vệ tim của bệnh nhân đái tháo đường

bằng cách kích hoạt con đường NOS [31]. Jae Sue Choi và các cộng sự đã chỉ ra luteolin có tiềm năng nhất trong ức chế ROS (reactive oxygen species), chống lại bệnh Alzheimer với khả năng ức chế các đích AChE, BChE, and BACE1 trong số ba chất khảo sát là luteolin và orientin and isoorientin. Đáng chú ý là tác dụng điều trị đái tháo đường, luteolin thể hiện hoạt động ức chế cao nhất chống lại PTP1B với giá trị IC_{50} là 6.70 μ M [32].

5. KẾT LUẬN

Các hợp chất: abieta-7,13-diene, kaempferol, quercetin, luteolin là những chất có khả năng ức chế protein tyrosin phosphatase 1B (PTP1B) mạnh với năng lượng liên kết lần lượt là 9,1 (kcal/mol); 8,5 (kcal/mol); 8,5 (kcal/mol); 8,5 (kcal/mol). Cả 4 chất trên đều thỏa mãn quy tắc Lipinski 5 và đặc tính hấp thu khá tốt, ít độc tính, có đặc điểm giống thuốc. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu *in vitro*, *in vivo* để phát triển các hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị bệnh đái tháo đường typ 2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chaudhury, A., et al., *Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management*. Frontiers in endocrinology, 2017. **8**: p. 6.
2. Association, A.D., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes care, 2009. **32**(Supplement 1): p. S62-S67.
3. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas — 9th Edition*. DiabetesAtlas <http://www.diabetesatlas.org/> 2019.
4. Ngoc, N.B., Z.L. Lin, and W. Ahmed, *Diabetes: What challenges lie ahead for Vietnam?* Annals of Global Health, 2020. **86**(1).
5. Cho, H., *Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and obesity*, in *Vitamins & Hormones*. 2013, Elsevier. p. 405-424.
6. Zabolotny, J.M., et al., *Protein-tyrosine phosphatase 1B expression is induced by inflammation in vivo*. Journal of Biological Chemistry, 2008. **283**(21): p. 14230-14241.
7. Montalibet, J. and B.P. Kennedy, *Therapeutic strategies for targeting PTP1B in diabetes*. Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2005. **2**(2): p. 129-135.
8. Dung, N.T., J.M. Kim, and S.C. Kang, *Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of Cleistocalyx operculatus (Roxb.) Merr and Perry buds*. Food and chemical Toxicology, 2008. **46**(12): p. 3632-3639.
9. Yu, W.-G., et al., *Dimethyl cardamonin exhibits anti-inflammatory effects via interfering with the PI3K-PDK1-PKC α signaling pathway*. Biomolecules & therapeutics, 2015. **23**(6): p. 549.
10. Mai, T.T. and N.V. Chuyen, *Anti-hyperglycemic activity of an aqueous extract from flower buds of Cleistocalyx operculatus (Roxb.) Merr and Perry*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 2007. **71**(1): p. 69-76.
11. Mai, T.T., N. Fumie, and N. Van Chuyen, *Antioxidant activities and hypolipidemic effects of an aqueous extract from flower buds of Cleistocalyx operculatus (Roxb.) Merr. and Perry*. Journal of food biochemistry, 2009. **33**(6): p. 790-807.
12. Meng, X.-Y., et al., *Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery*. Current computer-aided drug design, 2011. **7**(2): p. 146-157.
13. Shoichet, B.K., et al., *Lead discovery using molecular docking*. Current opinion in chemical biology, 2002. **6**(4): p. 439-446.
14. Lipinski, C.A., *Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution*. Drug Discovery Today: Technologies, 2004. **1**(4): p. 337-341.
15. Jayaram, B., et al. *Sanjeevini: a freely accessible web-server for target directed lead molecule discovery*. in *BMC bioinformatics*. 2012. Springer.
16. Pires, D.E., T.L. Blundell, and D.B. Ascher, *pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures*. Journal of medicinal chemistry, 2015. **58**(9): p. 4066-4072.
17. Ye, C.-L., Y.-H. Lu, and D.-Z. Wei, *Flavonoids from Cleistocalyx operculatus*. Phytochemistry, 2004. **65**(4): p. 445-447.
18. Tran, P.T., et al., *Identification of anti-osteoclastogenic compounds from Cleistocalyx operculatus flower buds and their effects on RANKL-induced osteoclastogenesis*. Journal of Functional Foods, 2019. **60**: p. 103388.

19. Lantz, K.A., et al., *Inhibition of PTP1B by trodusquemine (MSI-1436) causes fat-specific weight loss in diet-induced obese mice*. Obesity, 2010. **18**(8): p. 1516-1523.
20. Ngo, T.C., et al., *Insight into the antioxidant properties of non-phenolic terpenoids contained in essential oils extracted from the buds of Cleistocalyx operculatus: a DFT study*. RSC advances, 2016. **6**(37): p. 30824-30834.
21. Vinayagam, R. and B. Xu, *Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review*. Nutrition & metabolism, 2015. **12**(1): p. 60.
22. Chen, J., et al., *Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications*. Natural product communications, 2015. **10**(1): p. 1934578X1501000140.
23. M Calderon-Montano, J., et al., *A review on the dietary flavonoid kaempferol*. Mini reviews in medicinal chemistry, 2011. **11**(4): p. 298-344.
24. Fang, X.-K., J. Gao, and D.-N. Zhu, *Kaempferol and quercetin isolated from Euonymus alatus improve glucose uptake of 3T3-L1 cells without adipogenesis activity*. Life sciences, 2008. **82**(11-12): p. 615-622.
25. Yin, P., et al., *Identification and inhibitory activities of ellagic acid-and kaempferol-derivatives from Mongolian oak cups against α -glucosidase, α -amylase and protein glycation linked to type II diabetes and its complications and their influence on HepG2 cells' viability*. Arabian journal of chemistry, 2018. **11**(8): p. 1247-1259.
26. Shi, G.-J., et al., *In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications: A systematic review of the literature*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019. **109**: p. 1085-1099.
27. Cai, J., L. Zhao, and W. Tao, *Potent protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibiting constituents from Anoectochilus chapaensis and molecular docking studies*. Pharmaceutical biology, 2015. **53**(7): p. 1030-1034.
28. Achike, F.I. and D.D. Murugan, *Quercetin and anti-oxidant potential in diabetes*, in Diabetes. 2020, Elsevier. p. 293-302.
29. Ding, L., D. Jin, and X. Chen, *Luteolin enhances insulin sensitivity via activation of PPAR γ transcriptional activity in adipocytes*. The Journal of nutritional biochemistry, 2010. **21**(10): p. 941-947.
30. Zhang, Y., et al., *Luteolin protect against diabetic cardiomyopathy in rat model via regulating the AKT/GSK-3 α signalling pathway*. 2017.
31. Luo, Y., P. Shang, and D. Li, *Luteolin: A flavonoid that has multiple cardio-protective effects and its molecular mechanisms*. Frontiers in Pharmacology, 2017. **8**: p. 692.
32. Choi, J.S., et al., *The effects of C-glycosylation of luteolin on its antioxidant, anti-Alzheimer's disease, anti-diabetic, and anti-inflammatory activities*. Archives of pharmacal research, 2014. **37**(10): p. 1354-1363.