

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp HPLC định lượng Vitexin trong chế phẩm chữa lạc tiên. Mẫu thử được xử lý nhanh, đơn giản. Phương pháp phân tích có tính đặc hiệu cao, đáp

ứng yêu cầu của AOAC 2016. Phương pháp có thể được sử dụng cho việc xây dựng tiêu chuẩn chất lượng chế phẩm chữa lạc tiên, kiểm tra chất lượng và kiểm soát quy trình sản xuất.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2003), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Tập II, 883-886.
2. Patel S. S., Soni H., Mishra K., Singhai A. K. (2011), Recent updates on the genus *Passiflora*: A review, *International Journal of Research in Phytochemistry and Pharmacology*, 1(1), 1-16.
3. Huỳnh Lữ, Trần Hùng (2011), Khảo sát thành phần hóa học cây lạc tiên, *Tạp chí Dược liệu*, 16(1+2), tr.24-29.
4. Mareck U., Herrmann K., Galensaa R., Wray V. (1991), The 6-C-chinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from *Passiflora edulis*, *Phytochemistry*, 30(10), 3486-3487.
5. Nguyen T. Y., To D. C., Tran M. H., (2015), Anti-inflammatory Flavonoids Isolated from *Passiflora foetida*, *Natural Product Communications*, 10(6), 929-931.
6. Bộ Y tế (2018), Dược điển Việt Nam V, NXB Y học, 1226-1228.
7. Khuất Văn Mạnh (2015), Nghiên cứu và xây dựng dự thảo tiêu chuẩn cao khô lạc tiên, Luận văn thạc sĩ trường Đại học Dược Hà Nội.
8. Lữ Thị Kim Chi, Vũ Thị Ngọc Đình, Nguyễn Ngọc Vinh (2017), Phân lập và thiết lập chất chuẩn vitexin từ cây lạc tiên (*Passiflora foetida* Linn.), *Tạp chí Dược học*, 57(491), 70-73.
9. Nguyễn Đình Dũng, Nguyễn Thu Hằng, Nguyễn Duy Chí, Hứa Thùy Linh (2018), Khảo sát hàm lượng flavonoid trong vỏ hạt một số giống đậu xanh bằng HPLC, *Tạp chí Dược học*, 58(3) 23-28.
10. Trần Thị Tâm Nguyễn, Nguyễn Hữu Sơn, Lê Thị Thu Cúc, Nguyễn Ngọc Vinh (2019), Xây dựng quy trình định lượng đồng thời vicenin-2 và vitexin trong dược liệu rau đắng đất bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, *Tạp chí Dược học*, số 59(9) 50-54.
11. Marzouk H. M., Teaima M. H., El-Desoky A. M., Mohamed S. O. (2020), A validated HPLC-DAD method for simultaneous determination of major bioactive constituents of Antidiabetic herbal extracts; application to a newly Co-formulated nutraceutical product, *Microchemical Journal*, 159, 105472.
12. Foudah A. I., Alam P., Kamal Y. T. (2016), Development and validation of high performance thin-layer chromatographic method for the quantitative analysis of vitexin in *Passiflora foetida* herbal formulations, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(8), 1157-1163.
13. Pongpan N., Luanratana O., Suntornsuk L. (2007), Rapid reversed-phase high performance liquid chromatography for vitexin analysis and fingerprint of *Passiflora foetida*, *Current Science*, 93, 378-382.
14. The European Pharmacopoeia Commission (2020), The 10th European Pharmacopoeia.
15. Abourashed E. A., Vanderplank J. R., Khan I. A. (2002), High-Speed Extraction and HPLC Fingerprinting of Medicinal Plants - I. Application to *Passiflora* Flavonoids, *Pharmaceutical Biology*, 40(2), 81-91.
16. Shuayprom A., Sanguanserm Sri D., Sanguanserm Sri P., Fraser I. H., Wongkatiya N. (2016), Quantitative determination of vitexin in *Passiflora foetida* Linn. leaves using HPTLC, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(3), 216-220.

Tạp chí Dược liệu, tập 26, số 4/2021 (Trang 234 - 239)

SÀNG LỌC *IN SILICO* CÁC HỢP CHẤT FLAVONOID CÓ TÁC DỤNG ỨC CHẾ ENZYM CHUYỂN ANGIOTENSIN ĐỊNH HƯỚNG ĐIỀU TRỊ TĂNG HUYẾT ÁP

Cao Thị Xuân Quỳnh¹, Nguyễn Bảo Kim¹, Vũ Mạnh Hùng², Bùi Thanh Tùng^{1,*}

¹Đại Học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội; ²Học viện Quân Y

*Email: tungasia82@gmail.com

(Nhận bài ngày 15 tháng 6 năm 2021)

Tóm tắt

Tăng huyết áp là một bệnh lý mạn tính và là căn nguyên của nhiều biến chứng tim mạch nghiêm trọng. Enzym chuyển angiotensin (ACE) là một đích quan trọng trong điều trị tăng huyết áp. Nghiên cứu này có mục tiêu tìm kiếm các hợp chất flavonoid có khả năng ức chế ACE bằng phương pháp docking phân tử. Từ 116 hợp chất flavonoid trên cơ sở dữ liệu PubChem, kết quả docking cho 77 hợp chất có tác dụng ức chế ACE mạnh hơn chứng dương lisinopril. Phân tích quy tắc Lipinski thu được 23 hợp chất đều có đặc tính giống thuốc. Theo kết quả phân tích ADMET, 2 hợp chất là rotenon và amorphigenin có tiềm năng trở thành thuốc điều trị tăng huyết áp.

Từ khóa: Flavonoid, Enzym chuyển angiotensin (ACE), Tăng huyết áp, Molecular docking, *in silico*.

Summary

Screening *in silico* Flavonoid Compounds as Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors for Hypertension Treatment

Hypertension, a chronic disease, is the cause of many serious cardiovascular complications. Angiotensin-converting enzyme (ACE) is an important target for the treatment of hypertension. This study aimed to find flavonoid compounds with ACE inhibition activity using molecular docking method. From 116 flavonoids from PubChem database, molecular docking results showed that there were 77 compounds with stronger ACE inhibitory effect than the positive control lisinopril. Lipinski's criteria rule analysis yielded 23 compounds that have drug-like properties. According to the results of ADMET analysis, two compounds including rotenone and amorphigenin were suggested to be potential antihypertensive drugs.

Keywords: Flavonoid, Angiotensin converting enzyme, Hypertension, *in silico*, Molecular docking.

1. Đặt vấn đề

Tăng huyết áp là một thách thức lớn đối với sức khỏe cộng đồng do tỷ lệ mắc bệnh cao và có mối liên quan mật thiết với các bệnh tim mạch [1]. Hệ renin-angiotensin-aldosteron là đích quan trọng trong điều trị tăng huyết áp. Angiotensin I được phân cắt từ angiotensinogen bằng renin, sau đó chuyển thành peptid ở dạng hoạt động là angiotensin II nhờ tác dụng của enzym chuyển angiotensin (ACE), làm tăng huyết áp theo nhiều cơ chế khác nhau [2]. Nhiều hoạt chất đã được phát triển với mục tiêu tác dụng trên hệ thống này, điển hình là các thuốc ức chế ACE như captopril, lisinopril, ramipril. Tuy nhiên các thuốc ức chế men chuyển có một số tác dụng không mong muốn khi sử dụng lâu ngày như tăng nồng độ kali máu, ho, phù mạch và chống chỉ định cho phụ nữ có thai [3]. Flavonoid là một nhóm lớn, có nhiều tác dụng tốt cho sức khỏe như chống oxy hóa, chống nhiễm trùng, ức chế khối u, giảm nguy cơ xơ vữa mạch vành... [4]. Gần đây, có nhiều nghiên cứu đã cho thấy tiềm năng của flavonoid trong điều trị tăng huyết áp, đặc biệt là tác dụng ức chế ACE. Flavonoid có khả năng tạo phức với kim loại ở trung tâm hoạt động và ức chế hoạt động của ACE trong các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* [5]. Vì vậy, ngày càng nhiều hơn các nghiên cứu ở mức độ phân tử được công bố nhằm cung cấp hiểu biết về cơ chế của tương tác flavonoid-protein cũng như sàng lọc ra các hợp chất tiềm năng đáp ứng nhu cầu hỗ trợ điều trị tăng huyết áp.

Docking phân tử là một kỹ thuật mô hình hóa giúp dự đoán vị trí và cấu hình thuận lợi mà phân tử cơ chất (phối tử) có thể liên kết với phân tử protein (đích). Phương pháp *in silico* này tiết kiệm thời gian và chi phí trong việc sàng lọc các hợp chất hơn so với phương pháp thực nghiệm [6]. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm sàng lọc các hợp chất flavonoid có tác dụng ức chế enzym chuyển angiotensin bằng phương pháp docking phân tử. Sau đó, nghiên cứu các đặc điểm giống thuốc và tính toán các thông số dược động học và độc tính của các hợp chất thu được sau quá trình sàng lọc nhằm tìm kiếm hợp chất tiềm năng.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Mô hình docking

Chuẩn bị cấu trúc protein: Cấu trúc tinh thể của ACE với ID: 1O86 được thu thập từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB (www.rcsb.org) [7]. Trong phức hợp 1O86 đã chứa sẵn ligand đồng kết tinh là lisinopril. Để chuẩn bị cho quá trình docking, tất cả các phân tử nước và phân tử đồng kết tinh được loại bỏ khỏi cấu trúc protein bằng

phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Các phân tử hydrogen sẽ được thêm vào bằng phần mềm Autodock Vina trước khi tải lên vùng hoạt động của protein sử dụng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. Sau đó lưu protein dưới định dạng pdbqt để chuẩn bị cho quá trình docking.

Chuẩn bị cấu trúc phối tử: Cấu trúc 3D của 116 hợp chất flavonoid được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem ở định dạng sdf sau đó chuyển thành định dạng pdb bằng phần mềm Chimera [8],[9]. Tiếp theo, các phối tử được tối ưu hóa bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp rồi chuyển thành định dạng pdbqt bằng phần mềm Autodock Tools [10],[11].

Thực hiện docking phân tử: Các phối tử được dock vào trung tâm hoạt động của protein bằng phần mềm Autodock vina. Với kích thước hộp tìm kiếm (grid box) là 60x70x50 Å, khoảng cách giữa các ô lưới là 0,375 Å, tọa độ trục là $x=41.62$, $y=31.97$, $z=46.62$ được đặt dựa theo vị trí của ion Zn^{2+} và một số acid amin quan trọng ở vị trí hoạt động. Sử dụng phần mềm Discovery Studio Visualizer 2020 giúp quan sát các liên kết giữa protein và các hợp chất sàng lọc được.

Đánh giá kết quả docking: Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử đồng kết tinh được re-dock lại vào vị trí hoạt động của enzym. Quá trình được thực hiện thành công nếu giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) 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 (scoring function) của Autodock vina.

Đánh giá quy tắc tiêu chí của Lipinski

Quy tắc của Lipinski được sử dụng để so sánh giữa các hợp chất có đặc tính giống thuốc và không giống thuốc [12]. Công cụ trực tuyến (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) được sử dụng để đánh giá quy tắc Lipinski.

Dự đoán các thông số dược động học và độc tính

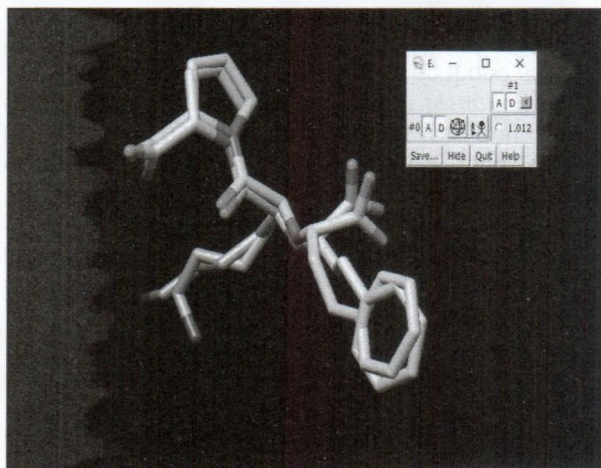
Kết quả dự đoán các thông số về dược động học bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính (ADMET) của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) [13].

3. Kết quả

Đánh giá mô hình docking

Trước khi sàng lọc các hợp chất, phối tử đồng kết tinh được tách ra khỏi phức hợp 1O86 rồi được re-dock lại vào vị trí hoạt động của enzym 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 tinh thể thu được giá trị RMSD là 1,012 Å (Hình 1). Giá trị này thỏa mãn điều kiện



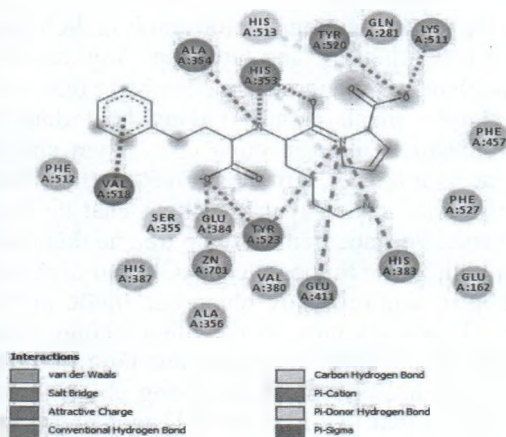
Hình 1. RMSD của lisinopril đồng kết tinh trước và sau khi re-dock

Kết quả docking lisinopril cho năng lượng liên kết $\Delta G = -8,6$ kcal/mol. Lisinopril tạo liên kết hydro với các acid amin His353, Ala354, Tyr523, liên kết π -cation và π -sigma bền vững với Lys511, His383, Glu411 và ion kẽm tại vị trí hoạt động (Hình 2). Điểm số docking -8,6 kcal/mol được dùng làm cơ sở để sàng lọc các hợp chất tiềm năng.

Bảng 1. Kết quả docking của 77 hợp chất và phối tử đồng kết tinh lisinopril

STT	Tên hợp chất	Năng lượng (kCal/mol)	STT	Tên hợp chất	Năng lượng (kCal/mol)
1	Silybin	-10,3	40	Silybin B	-10,2
2	Rotenon	-9,2	41	Miquelianin	-9,6
3	Hesperidin	-10,6	42	Apiin	-10,2
4	Amorphigenin	-9,2	43	Rhoifolin	-10,5
5	Swertisin	-9,0	44	Lonicerin	-10,7
6	Diphysolon	-9,2	45	Isoginkgetin	-10,7
7	Brazilin	-8,9	46	Erylatissin B	-9,1
8	Rutin	-9,8	47	Licoisoflavon A	-9,1
9	Iridin	-9,2	48	Formononetin	-8,6
10	Tectoridin	-9,1	49	Neobavaisoflavon	-9,1
11	Quercimeritrin	-9,4	50	Astragalin	-8,8
12	Glabridin	-8,8	51	Isoquercetin	-9,3
13	Glycitin	-9,4	52	Ononin	-9,4
14	Neohesperidin dihydrochalcon	-9,2	53	Baicalein 7-O-glucuronid	-9,6
15	(-)-Epigallocatechin gallat	-9,1	54	Catechin 7-O-beta-D-xylosid	-9,3
16	2,3-Dihydroauriculatin	-9,2	55	Phaseollinisoflavan	-9,2
17	Cyanidin 3-O-rutinosid	-9,8	56	Delphinidin 3-O-glucosid	-9,5
18	Catechin 7-O-gallate	-10,0	57	3'-Dimethylallylkievitone	-9,4
19	2'-Hydroxy-7,4-dimethoxyisoflavon	-9,0	58	Quercetin 3-O-malonylglucosid	-9,6
20	Quercetin-3-O-rhamnosid	-9,1	59	Apigenin-7-O-glucuronid	-9,8
21	Kaempferol-7-neohesperidosid	-10,0	60	Quercetin 3-sambubiosid	-9,8
22	Rhamnetin-3-rhamnosid	-9,0	61	Apigenin-4'-glucosid	-9,6
23	Quercetin 3-neohesperidosid	-9,8	62	Kaempferol 4'-glucosid	-9,4

RMSD nhỏ hơn 1,5 Å chứng tỏ kết quả docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy.



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

Mô hình docking của các hợp chất với đích protein

Sau khi chuẩn bị phối tử, chúng tôi tiến hành docking 116 hợp chất flavonoid để sàng lọc hoạt động enzyme ACE của chúng và lựa chọn được 77 hợp chất có năng lượng liên kết nhỏ hơn của chúng dương lisinopril (Bảng 1).

24	Kaempferol 3,7-diglucosid	-9,8	63	Kaempferol 3-O-gentiobiosid	-9,5
25	Apigenin-7-O-gentiobiosid	-10,6	64	Glycyrrhizaisoflavan B	-9,1
26	Apigenin-7-O-glucosid	-9,8	65	Flavonol 7-O-beta-D-glucosid	-9,6
27	Kaempferol-3-O-glucuronosid	-9,5	66	Chrysin-7-O-glucuronid	-9,9
28	Quercetin 3,7-dirhamnosid	-10,6	67	Genistein-7-O-glucuronid	-9,2
29	Catechin 7-O-apiofuranosid	-9,7	68	Kaempferol 3-O-beta-D-xylosid	-8,8
30	5-Deoxykieviton hydrat	-8,6	69	Globularicitrin	-10,1
31	Apigenin 4'-O-rhamnosid	-10,1	70	Genistein 4'-O-glucuronid	-9,9
32	Pelargonidin 3,5-di-beta-D-glucosid	-9,5	71	Genistin 7-O-gentiobiosid	-10,0
33	7-O-[beta-D-arabinopyranosyl-(1->6)-beta-D-glucosyl]87apigenin	-10,7	72	6"-O-molonyltectoridin	-9,7
34	Kaempferol-3-O-beta-glucopyranosyl-7-O-alpha-rhamnopyranosid	-9,7	73	4'-Demethyltoxicarol isoflavan	-8,7
35	Rhamnetin 3-O-beta-glucopyranosid	-9,3	74	Quercetin 3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1->2)-alpha-L-arabinopyranosid	-9,7
36	Quercetin-3,4'-O-di-beta-glucopyranosid	-10,2	75	Kaempferol 3-O-beta-D-galactopyranosyl-7-O-alpha-L-rhamnopyranosid	-10,3
37	7-hydroxyflavanon 7-O-beta-D-glucosid	-9,6	76	Quercetin 3-O-alpha-L-fucopyranosid	-8,9
38	Ginkgetin	-11,2	77	7-hydroxy-8-(morpholin-4-ylmethyl)-3-phenylchromen-4-on	-9,1
39	Carlinosid	-9,4	78	Lisinopril	-8,6

Kết quả quy tắc tiêu chí của Lipinski

Các hợp chất có đặc tính “giống thuốc” khi chúng không vi phạm quá một trong 4 tiêu chí sau: Trọng lượng phân tử: MW < 500 Dalton; Số lượng nhóm cho liên kết hydro (Số lượng các nhóm -NH và -OH): HBD < 5; Số lượng nhóm nhận liên kết

hydro (Bao gồm nguyên tử O và N): HBA < 10; Hệ số phân bố octanol/nước: LogP < 5. Từ 77 chất ở Bảng 1, chúng tôi sàng lọc được 23 hợp chất thỏa mãn quy tắc tiêu chí của Lipinski. Kết quả đáp ứng quy tắc tiêu chí của Lipinski của 23 hợp chất này được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá quy tắc tiêu chí của Lipinski

STT	Tên hợp chất	Phân tử khối	Số nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Số nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	LogP
1	Rotenon	394,4	0	6	3,7
2	Brazilin	286,3	4	5	1,6
3	Amorphigenin	410,4	1	7	2,7
4	Phaseollinisoflavan	324,4	2	4	4,0
5	Diphysolon	356,4	4	6	3,4
6	Glabridin	324,4	2	4	4,0
7	Erylatissin B	336,3	2	5	4,1
8	Licoisoflavan A	354,4	4	6	3,7
9	Formononetin	268,3	1	4	3,2
10	Neobavaisoflavan	322,4	2	4	4,4
11	Ononin	430,4	4	9	0,6
12	Biochanin A	284,3	2	5	2,0
13	2,3-Dihydroauriculatin	422,4	3	6	4,9
14	2'-Hydroxy-7,4-dimethoxyisoflavan	298,3	1	5	3,2
15	3'-Dimethylallylkieviton	424,5	4	6	4,9
16	Glycyrrhizaisoflavan B	366,4	2	6	4,1
17	Flavonol 7-O-beta-D-glucosid	416,4	5	9	0,3
18	Chrysin-7-O-glucuronid	430,4	5	9	0,4
19	5-Deoxykieviton hydrat	358,4	4	6	2,9
20	Apigenin 4'-O-rhamnosid	416,4	5	9	1,1
21	4'-Demethyltoxicarol isoflavan	396,4	2	7	4,1
22	7-hydroxyflavanon 7-O-beta-D-glucosid	402,3	4	8	0,5
23	7-hydroxy-8-(morpholin-4-ylmethyl)-3-phenylchromen-4-on	337,3	1	5	2,9

Đánh giá ADMET

Tiếp tục đánh giá ADMET của 23 hợp chất, chúng tôi lựa chọn được 2 hợp chất với tiêu chí ưu tiên là không có độc tính và có đặc tính dược động học có thể phát triển thành thuốc là rotenon

và amorphigenin. Kết quả dự đoán ADMET của hai chất rotenon và amorphigenin gồm các quá trình hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ, độc tính được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích các đặc tính hấp thu, phân bố và chuyển hóa.

Tên hợp chất	Hấp thu		Phân bố		Chuyển hóa		Thải trừ	Độc tính		
	CaCo2	HIA	BBB	VDss	CYP2D6	CYP3A4	Clr	AMES	Gan	Da
Rotenon	1,41	97,05	0,004	-0,09	Không	Có	0,224	Không	Không	Không
Amorphigenin	1,29	98,07	-0,749	0,01	Không	Không	0,226	Không	Không	Không

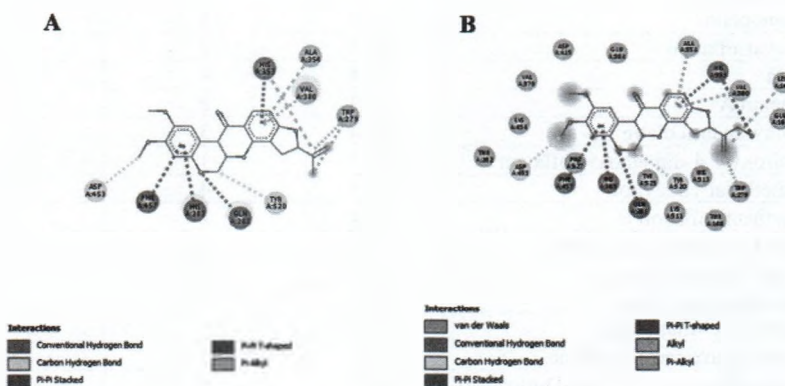
Chú thích: CaCo2: tính thấm qua màng CaCo2 (log P_{app}); HIA: hấp thu ở ruột (%); BBB: thấm qua hàng rào máu não (log BBB); VDss: thể tích phân bố trong cơ thể người (log L/kg); CYP2D6: khả năng ức chế CYP2D6; CYP3A4: khả năng ức chế CYP3A4; Clr: Thanh thải toàn phần (log mL/phút/kg). AMES: đánh giá khả năng độc tính gây ung thư.

Chúng tôi đánh giá khả năng hấp thu của các chất dựa trên hai thông số đó là tính thấm qua màng CaCo2 và phần trăm hấp thu thuốc đường ruột. Tính thấm qua màng CaCo2 (log P_{app}) có giá trị cao hơn 0,9 được cho là có khả năng thấm tốt, hai hợp chất đều có khả năng thấm cao với giá trị log P_{app} đều > 0,9 (1,41; 1,29). Đối với sự phân bố, giá trị logBBB lớn hơn 0,3 được cho là có khả năng hấp thu tốt qua hàng rào máu não (logBBB < 0,3). Về chuyển hóa, rotenon có khả năng ức chế CYP3A4, vì vậy có khả năng sẽ làm tăng sinh khả dụng của các chất bị chuyển hóa bởi enzym CYP3A4 nếu được sử dụng đồng thời. Cả 2 hợp chất đều có thể thải trừ qua thận. Về độc tính, cả 2 hợp chất đều không gây kích ứng da, không có độc tính gan và độc tính AMES.

Tương tác giữa 2 hợp chất với ACE được minh họa hai chiều bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0 ở Hình 3. Kết quả phân tích tương tác với các acid amin của ACE được thể hiện ở Bảng 4.

Xét về khả năng tạo tương tác, các hợp chất đều liên kết tốt tại vị trí hoạt động của ACE khi đều liên kết với 9 acid amin trở lên. Rotenon và amorphigenin cho thấy nhiều sự tương đồng với lisinopril về các liên kết. Rotenon tạo liên kết

hydro với Gln281 và liên kết C-H với Tyr520, bên cạnh tương tác $\pi-\pi$ xếp chồng giữa các vòng thơm với His353, His383 làm tăng độ ổn định của hệ. Liên kết xếp chồng π phổ biến trong cấu trúc tinh thể protein, và cũng góp phần vào sự tương tác giữa các phân tử nhỏ và protein. Amorphigenin thể hiện liên kết tốt nhất với vùng hoạt động khi liên kết His353, Tyr520, Gln281 và Glu162, bên cạnh tương tác $\pi-\pi$ rất bền vững với His383 và Phe457. Lisinopril cũng tương tác với ACE qua những acid amin quan trọng này, như vậy rotenon và amorphigenin cho thấy khả năng gắn kết tốt với ACE. Xét về giá trị điểm tương tác, rotenon và amorphigenin cũng cho thấy kết quả tốt (-9,2 kCal/mol), thể hiện phức hợp giữa cơ chất và enzym có khả năng ổn định cao, điều này phù hợp với việc hai chất này tạo được nhiều liên kết bền vững với các acid amin tại trung tâm hoạt động. Vì vậy, có thể khẳng định amorphigenin, rotenon có khả năng tương tác tốt với ACE. Hơn nữa, rotenon và amorphigenin đều là các rotenoid tự nhiên có chứa một hạt nhân tetrahydrochromeno[3,4-b]chromen được hợp nhất với nhau dưới dạng cis. Sự tương đồng về cấu trúc này cũng giải thích sự tương tự về khả năng liên kết của chúng với enzym đích.



Hình 3. Tương tác của 2 hợp chất với ACE. A. Rotenon; B. Amorphigenin.

Bảng 4. Kết quả phân tích tương tác với các acid amin của ACE

Tên hợp chất	ID	Liên kết hydro	Liên kết π
Rotenon	6758	Gln281, Asp453, Tyr520	Phe457, His383, Trp279, Val380, His353, Ala354
Amorphigenin	92207	Asp453, Gln281, Tyr520, His353	Ala354, Glu162, Val380, Leu161, Trp279, His383, Phe457.
Lisinopril	5362119	Ala354, His353, Tyr520, Tyr523, His513	Lys511, Glu411, His383, Val 518, Zn ²⁺

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành sàng lọc ảo 116 hợp chất flavonoid có nguồn gốc thiên nhiên được tải về từ thư viện hóa học Pubchem. Kết quả thu được 77 hợp chất cho thấy khả năng gắn kết tốt hơn chất đối chứng lisinopril do có các vòng thơm tạo tương tác π - π ổn định và nhiều nhóm hydroxy cần thiết cho hoạt động ức chế ACE. Tuy nhiên, chỉ có 23 hợp chất đáp ứng được các tiêu chí của một hợp chất đường uống và hai hợp chất trong số đó cho thấy tính khả quan về mặt dược động học và độc tính, là rotenon và amorphigenin. Rotenon là một isoflavan có nguồn gốc từ rễ và thân của các loài *Lonchocarpus* và *Derris*, được sử dụng rộng rãi như một chất diệt trừ sâu bệnh ở thực vật. Rotenon được biết đến là một chất ức chế mạnh phức hợp I của chuỗi hô hấp ty thể, ức chế sự tăng sinh tế bào trong các bệnh xơ hóa và ung thư [14]. Rotenon cho thấy khả năng liên kết tốt với ACE với điểm số docking là -9,2 kCal/mol, khả năng hấp thụ tốt (97,05% qua ruột, tính thẩm màng Caco2 với log P_{app} là 1,41). Amorphigenin cũng là một isoflavan tương tự chiết xuất từ rễ loài *Amorpha fruticosa* L., thuộc họ Đậu, có nguồn gốc từ Bắc Mỹ và đông nam Canada [15]. Tác dụng được biết đến chủ yếu của amorphigenin

là diệt khuẩn, diệt ấu trùng muỗi do ức chế phức hợp ty thể I [16]. Amorphigenin có khả năng liên kết tốt với ACE với năng lượng liên kết là -9,2 kCal/mol và tạo được nhiều liên kết với các acid amin quan trọng ở vị trí hoạt động tương tự như lisinopril. Amorphigenin hấp thu rất tốt ở ruột (98,07%), không gây ra độc tính trên gan, da, tim, không đi vào hệ thần kinh trung ương.

Hiện nay chưa có nghiên cứu đánh giá tác dụng của rotenon và amorphigenin đối với ACE và bệnh tăng huyết áp. Rotenon và amorphigenin qua tính toán có tiềm năng ức chế ACE. Cần có những đánh giá sâu hơn trên thực nghiệm để chứng minh tác dụng này cũng như khả năng trở thành thuốc của nó.

5. Kết luận

Trong số 116 hợp chất được nghiên cứu, có 77 hợp chất có tác dụng ức chế ACE mạnh hơn chứng dương lisinopril và trong 77 chất đó có 23 hợp chất đặc tính giống thuốc. Nghiên cứu sâu hơn về hai hợp chất rotenon và amorphigenin cho thấy có khả năng liên kết khá tương đồng với lisinopril tại vị trí hoạt động của ACE. 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 tăng huyết áp.

Tài liệu tham khảo

- Bộ Y tế, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị tăng huyết áp*, 2010.
- Crowley S.D., Gurley S.B., Herrera M.J., Ruiz P., Griffiths R., Kumar A. P., Kim H. S., Smithies O., Le T. H., Coffman T. M. (2006), Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(47), 17985-17990.
- Messerli F. H., Bangalore S., Bavishi C., Rimoldi S. F., (2018), Angiotensin-converting enzyme inhibitors in hypertension: to use or not to use?, *Journal of the American College of Cardiology*, 71(13), 1474-1482.
- Yao L. H., Jiang Y. M., Shi J., Tomas-Barberan F., Datta N., Singanusong R., Chen S. (2004), Flavonoids in food and their health benefits, *Plant foods for human nutrition*, 59(3), 113-122.
- Clark J. L., Zahradka P., Taylor C. G., (2015), Efficacy of flavonoids in the management of high blood pressure, *Nutrition reviews*, 73(12), 799-822.
- Ferreira L. G., Dos Santos R. N., Oliva G., Andricopulo A. D., (2015), Molecular docking and structure-based drug design strategies, *Molecules*, 20(7), 13384-13421.
- Natesh R., Schwager S.L., Sturrock E. D., Acharya K. R. (2003), Crystal structure of the human angiotensin-converting enzyme-lisinopril complex, *Nature*, 421(6922), 551-554.
- Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S., Li Q., Shoemaker B. A., Thiessen P. A., Yu B., Zaslavsky L., Zhang J., Bolton E. E. (2021), PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces, *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D1388-D1395.
- Pettersen E. F., Goddard T. D., Huang C. C., Couch G. S., Greenblatt D. M., Meng E. C., Ferrin T. E., (2004), UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis, *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-12.
- Hanwell M. D., Curtis D. E., Lonie D. C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G. R. (2012), Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform, *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17.
- Morris G. M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M. F., Belew R. K., Goodsell D. S., Olson A. J. (2009), AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-91.
- Lipinski C. A. (2004), Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution, *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337-341.
- Pires D. E., Blundell T. L., Ascher D. B., (2015), pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures, *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), 4066-4072.
- Shi Y., Feng S., Chen W., Hua Z., Bian J., Yin W. (2014), Mitochondrial inhibitor sensitizes non-small-cell lung carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by reactive oxygen species and Bcl-X L/p53-mediated amplification mechanisms, *Cell death & disease*, 5(12), e1579-e1579.
- Kozuharova E., Matkowski A., Woźniak D., Simeonova R., Naychov Z., Malainer C., Mocan A., Nabavi S. M., Atanasov A. G. (2017), *Amorpha fruticosa*-A noxious invasive alien plant in Europe or a medicinal plant against metabolic disease?, *Frontiers in Pharmacology*, 8, 333.
- Liang Y., Li X., Gu Z., Qin P., Ji M. (2015), Toxicity of amorphigenin from the seeds of *Amorpha fruticosa* against the larvae of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae), *Molecules*, 20(2), 3238-3254.