

Nghiên cứu *in silico* khả năng ức chế receptor GP IIb/IIIa của các dẫn chất flavonoid và curcumin

Võ Thị Quỳnh Nhi¹, Nguyễn Thịnh Tín¹, Cao Thị Cẩm Nhung¹,
Nguyễn Thanh Bích Châu¹, Trần Thế Huân¹, Trần Thái Sơn^{1*}

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Huyết khối là một trong những nguyên nhân phổ biến gây tử vong. Những liệu pháp kháng tiểu cầu hiện tại vẫn tồn tại nhiều tác dụng phụ, hoặc khiến bệnh nhân không đáp ứng với trị liệu. Vì vậy, nghiên cứu và phát triển các thuốc kháng tiểu cầu mới là mục tiêu quan trọng trong cải thiện điều trị bệnh. Mục tiêu của nghiên cứu này là thiết kế các dẫn chất flavonoid và curcumin có khả năng ức chế trên receptor glycoprotein (GP) IIb/IIIa. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Xây dựng các mô hình *in silico* để dự đoán hoạt tính sinh học và khả năng gắn kết với receptor GP IIb/IIIa của các dẫn chất. Áp dụng các mô hình này để sàng lọc ảo thư viện dẫn chất flavonoid và curcumin. Thiết kế dẫn chất mới từ các cấu trúc tiềm năng nhất. **Kết quả:** Xây dựng được mô hình 2D-QSAR và mô hình docking phân tử với khả năng dự đoán tốt. Sàng lọc trên thư viện flavonoid và curcumin thu được 16 dẫn chất curcumin và 29 dẫn chất flavonoid tiềm năng. Hai dẫn chất **S4** và **S35** được lựa chọn để tối ưu hóa cấu trúc và thu được 2 dẫn chất tương ứng là **S4'** và **S35'** có thể sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo. **Kết luận:** Nghiên cứu sẽ góp phần định hướng tìm ra được các chất khởi nguồn có khả năng ức chế receptor GP IIb/IIIa, qua đó rút ngắn thời gian tìm kiếm thuốc mới trong điều trị các bệnh lý huyết khối.

Từ khóa: Huyết khối, receptor GP IIb/IIIa, *in silico*, QSAR, docking phân tử, flavonoid, curcumin.

Abstract

In silico inhibitory activities of flavonoid and curcumin derivatives against GP IIb/IIIa receptor

Vo Thi Quynh Nhi¹, Nguyen Thinh Tin¹, Cao Thi Cam Nhung¹,
Nguyen Thanh Bich Chau¹, Tran The Huan¹, Tran Thai Son^{1*}

(1) Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: Over the past 15 years, thrombosis has been one of the most common causes of death. Current antiplatelet therapies could limit the morbidity and mortality from thromboembolic diseases, but they still have side effects such as uncontrolled bleeding, and patients' intolerance. Therefore, finding new antiplatelet agents is an important goal in improving the treatment of thrombotic diseases. **Objective:** To design flavonoid and curcumin derivatives that inhibit the glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor, which plays an important role in platelet aggregation. **Materials and Methods:** *In silico* models were built to predict the biological activities of chemical compounds. These models were used in virtual screening, and new structures were designed from most promising molecules. **Results:** The 2D-QSAR and molecular docking models were developed with good predictability. From the virtual screening process, 16 curcumin and 29 flavonoid derivatives were obtained with potential activities on target protein. Two substances S4 and S35 were selected for structural optimization, and two new compounds with the greatest potential for further research were found. **Conclusion:** The study will contribute to the orientation of finding lead compounds capable of inhibiting the receptor GP IIb/IIIa, thereby shortening the time to search for new substances in the treatment of thrombotic diseases.

Keywords: Thrombosis, GP IIb/IIIa receptor, *in silico*, QSAR, molecular docking, flavonoid, curcumin.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của Tổ chức Y tế thế giới, trong hơn 15 năm qua, các bệnh lý huyết khối là một trong những nguyên nhân phổ biến nhất dẫn đến tử vong, đặc biệt là thiếu máu cục bộ cơ tim và tai biến mạch máu não. Những liệu pháp kháng tiểu cầu hiện tại

giúp hạn chế tỉ lệ mắc bệnh và tử vong do huyết khối nhưng chúng vẫn tồn tại nhiều tác dụng phụ như gây chảy máu không kiểm soát, và nhiều bệnh nhân không đáp ứng với trị liệu (1, 2).

Liệu pháp sử dụng aspirin có khả năng làm giảm nguy cơ tử vong do nhồi máu cơ tim ở bệnh nhân

mắc hội chứng mạch vành cấp, trong khi đó các thuốc ức chế receptor glycoprotein (GP) IIb/IIIa tiềm mạch còn giảm được tỉ lệ biến cố thiếu máu cục bộ, biến chứng sau đặt stent nong mạch vành và cải thiện hiệu quả đặt stent mạch vành. Do đó ngày càng có nhiều nghiên cứu về các chất đối kháng receptor GP IIb/IIIa (3).

Phức hợp GP IIb/IIIa thuộc họ integrin, là thụ thể đặc hiệu duy nhất và phong phú nhất trên bề mặt tiểu cầu. Nó có vai trò quan trọng trong quá trình kết tập tiểu cầu. Khi có tín hiệu kích thích thông qua việc kết dính tiểu cầu ở dịch ngoại bào hoặc các chất đồng vận thì thông tin được truyền từ nội ra ngoại bào, GP IIb/IIIa được kích hoạt, phơi bày domain gắn kết RGD (Arg-Gly-Asp) ngoại bào, tăng ái lực gắn kết với các phối tử. Mật độ bề mặt của GP IIb/IIIa hoạt động tăng lên trong quá trình hoạt hóa tiểu cầu làm tăng dần liên kết giữa GP IIb/IIIa với các phối tử, điển hình là fibrinogen và yếu tố von Willebrand (von Willebrand factor). Các liên kết này cho phép các phối tử hoạt động như cầu nối giữa các tiểu cầu liên kết tạo nên tập hợp tiểu cầu và hình thành cục máu đông. Thuốc kháng thụ thể GP IIb/IIIa ức chế liên kết giữa các phối tử với thụ thể, dẫn đến ngăn chặn hình thành cục máu đông (4-6).

Cho đến nay, có 3 chất đối kháng GP IIb/IIIa được chấp thuận cho sử dụng trên lâm sàng ở hầu hết quốc gia, đó là abciximab (Reopro), eptifibatide (Integrilin) và tirofiban (Aggrastat). Tất cả đều được sử dụng bằng đường tiêm tĩnh mạch (7).

Hiện nay, hơn 80% các nghiên cứu phát triển thuốc mới đều bắt nguồn từ những sản phẩm tự nhiên. Một lượng lớn dẫn xuất của các hợp chất tự nhiên được nghiên cứu, thử nghiệm lâm sàng và tạo ra những ứng viên quan trọng cho thuốc mới. Trong đó, các dẫn xuất flavonoid và curcumin được biết đến với nhiều lợi ích cho sức khỏe của con người, và vẫn còn được tiếp tục nghiên cứu về các tiềm năng sinh học mới (2, 8, 9).

Đối với các bệnh lý huyết khối, các hợp chất flavonoid và curcumin được nghiên cứu và chứng minh có tác dụng ức chế quá trình đông máu trong nhiều nghiên cứu với nhiều cơ chế khác nhau. Trong đó flavonoid là ức chế tổng hợp tiểu cầu thông qua ức chế sự tăng Ca^{2+} nội bào (cần thiết cho sự hình thành huyết khối, tái tổ chức các actin để thay đổi hình dạng), khử tín hiệu integrin được tạo ra bởi GPIIb/IIIa; kháng thụ thể của collagen và GPIIb/IIIa hoạt động; tăng sản xuất NO, làm giảm sự biểu hiện của phức hợp GP IIb/IIIa, giảm tổng hợp tiểu cầu (10-12). Bên cạnh đó, các dẫn chất curcumin được nghiên cứu có thể làm giảm mức độ biểu hiện của P-selectin, E-selectin và GP IIb/IIIa trên tiểu cầu và

tế bào nội mô mạch máu não; ức chế con đường cyclooxygenase bằng cách ngăn chặn thụ thể GP IIb/IIIa làm ức chế quá trình tổng hợp tiểu cầu (13, 14).

Cùng với sự hỗ trợ đắc lực của công nghệ hiện đại, khoa học máy tính cho phép thiết kế mô hình các phân tử và dự đoán hoạt tính sinh học dựa trên tính chất lý hóa của chúng một cách nhanh chóng, giúp rút ngắn thời gian và chi phí cho giai đoạn nghiên cứu phát triển thuốc mới. Trong đó, sàng lọc ảo *in silico* là phương pháp xác định các phân tử nhỏ có hoạt tính sinh học được phát triển thông qua sự cải tiến của các thuật toán và năng lực của máy tính, tạo thuận lợi cho quá trình nghiên cứu và phát triển tiếp theo để xác định tác dụng của các phân tử đối với đích tác động bằng các thử nghiệm thực nghiệm (1).

Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu dự đoán hoạt tính ức chế và khả năng gắn kết của các dẫn chất flavonoid và curcumin đối với receptor GP IIb/IIIa, từ đó tìm ra những phân tử tiềm năng định hướng cho những nghiên cứu tiếp theo với mong muốn phát triển được những thuốc mới trong điều trị, ngăn chặn các bệnh huyết khối.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện trên receptor GP IIb/IIIa, và các dẫn chất flavonoid và curcumin được thiết kế mới dựa vào các phương pháp thiết kế thuốc có sự hỗ trợ của máy tính.

2.1. Quy trình nghiên cứu

Quy trình nghiên cứu gồm 4 bước chính, bao gồm: (i) xây dựng mô hình 2D-QSAR; (ii) xây dựng mô hình docking phân tử; (iii) sàng lọc ảo; (iv) tối ưu hóa các chất sàng lọc được.

2.2. Phần mềm và phương tiện sử dụng

- MOE 2008.10 (15) - RapidMiner Studio 9.6 (16)
- BioSolveIT LeadIT 2.1.8 (17) - Weka 3.8.4 (18)
- ChemBioDraw Ultra 11.0 (19) - SwissADME (20)

2.2.1. Xây dựng mô hình 2D-QSAR

Cơ sở dữ liệu

Dữ liệu về cấu trúc và hoạt tính sinh học của các dẫn chất có khả năng ức chế GP IIb/IIIa được thu thập từ các bài báo khoa học (21-29) theo các từ khóa: Glycoprotein IIb/IIIa antagonists, inhibitors, platelet aggregation, derivatives... Sau đó tiến hành lựa chọn được 57 hợp chất có phân bố cấu trúc đa dạng; và được nghiên cứu khả năng ức chế GP IIb/IIIa bằng phương pháp *in vitro* trên tiểu cầu người. Tiếp theo, tiến hành hiệu chỉnh các giá trị IC_{50} và pIC_{50} của các dẫn chất, tất cả giá trị hoạt tính sinh học được chuyển thành pIC_{50} theo công thức $pIC_{50} = -\log (IC_{50})$. Cấu trúc 2D của các dẫn chất được xây dựng bằng phần mềm ChemDraw Ultra 11.0 và MOE 2008.10. Các dẫn chất có đặc điểm cấu trúc tương tự nhau được

gộp lại thành cụm bằng công cụ *Cluster codes* (MOE 2008.10) và chỉ giữ lại những chất có hoạt tính sinh học cao nhất trong mỗi cụm. Kết quả thu được tập hợp gồm 32 cấu trúc làm cơ sở dữ liệu đầu vào cho nghiên cứu xây dựng và đánh giá mô hình 2D-QSAR.

Tính toán và lựa chọn các thông số mô tả phân tử

Các thông số mô tả phân tử 2D được tính toán bởi phần mềm MOE 2008.10, sau đó được xử lý để loại bỏ các thông số thừa hoặc không liên quan nhằm tăng chất lượng các mô hình dự đoán, đồng thời giảm thiểu thời gian tính toán. Đầu tiên phần mềm RapidMiner Studio 9.6 được sử dụng để loại bỏ các thông số không hữu ích – *useless* (có giá trị cố định cho ít nhất 80% tổng số chất), các thông số có tương quan với nhau – *correlate* (có hệ số tương quan > 0,9). Phần mềm Weka 3.8.4 tiếp tục được sử dụng để lựa chọn các thông số tối ưu, phương pháp áp dụng là tìm kiếm *BestFirst* với kiểu lựa chọn thuộc tính là *Use full training set*.

Phát triển và đánh giá mô hình

Cơ sở dữ liệu được phân chia thành 2 tập hợp là tập xây dựng (chiếm 80% tổng số chất) và tập đánh giá (chiếm 20% tổng số chất) bằng phương pháp phân chia ngẫu nhiên. Mô hình 2D-QSAR được phát triển dựa trên thuật toán bình phương tối thiểu từng phần (*Partial Least Square*) và được đánh giá bằng các giá trị: (i) RMSE (root-mean-square error - căn bậc 2 trung bình bình phương sai số giữa giá trị hoạt tính sinh học dự đoán và thực nghiệm), R^2 (bình phương hệ số tương quan), XRMSE (RMSE của đánh giá chéo), XR^2 (R^2 của đánh giá chéo) trên tập xây dựng mô hình (đánh giá nội); (ii) và giá trị RMSE và R^2 trên tập đánh giá (đánh giá ngoại). Tiêu chuẩn đối với một mô hình 2D-QSAR có năng lực dự đoán hoạt tính sinh học của các dẫn chất là các giá trị RMSE < 0,5 và R^2 > 0,5 (30).

2.2.2. Xây dựng mô hình docking phân tử

Tiến trình docking phân tử đầu tiên được thực hiện với phối tử đồng kết tinh để đánh giá độ tin cậy của mô hình xây dựng. Phối tử đồng kết tinh được dock trở lại (re-dock) vào khoang gắn kết của

receptor GP IIb/IIIa, nếu giá trị RMSD (root-mean-square deviation - căn bậc 2 trung bình bình phương độ lệch) giữa cấu dạng re-dock và cấu dạng có sẵn trong phức hợp đồng kết tinh $\leq 2,0$ Å thì mô hình docking phân tử được xây dựng được xem là có độ tin cậy cao và có thể sử dụng để phân tích tương tác của các phối tử khác khi áp dụng mô hình này (31, 32). Trong nghiên cứu này, phức hợp đồng kết tinh của receptor GP IIb/IIIa được sử dụng là 2VDN với độ phân giải 2.90 Å. Phức hợp 2VDN được tải xuống từ ngân hàng dữ liệu protein (protein data bank) (33) và tiến hành docking bằng chương trình FlexX trong phần mềm BioSolveIT LeadIt 2.1.8 với các thông số và grid box được giữ mặc định (khoảng gắn kết được xác định bao gồm các acid amin nằm trong vòng bán kính 6,5 Å tính từ vị trí của phối tử đồng kết tinh). Các cấu dạng gắn kết được phân tích dựa vào điểm số docking và các tương tác tạo được với đích tác động.

2.2.3. Sàng lọc ảo

Tiến hành sàng lọc các dẫn chất có đặc tính giống thuốc bằng luật 5-Lipinski và công cụ SwissADME. Các dẫn chất sau đó được dự đoán hoạt tính sinh học bằng mô hình 2D-QSAR và khả năng gắn kết với receptor GP IIb/IIIa bằng mô hình docking phân tử. Lựa chọn các dẫn chất có tiềm năng nhất thu được từ sàng lọc ảo để tối ưu hóa cấu trúc.

2.4. Tối ưu hóa cấu trúc các chất sàng lọc được

Lựa chọn dẫn chất có plC_{50} tốt nhất và/hoặc điểm số docking tốt nhất để thực hiện tối ưu hóa cấu trúc. Quá trình này được thực hiện bằng công cụ *LigX* (MOE 2008.10), trong đó các dẫn chất mới được thiết kế phù hợp với vị trí gắn protein bằng cách gắn thêm các nguyên tử, nhóm thế, các nhóm gắn kết (linker) thích hợp... nhằm đảm bảo có hoạt tính sinh học dự đoán và/hoặc sự gắn kết tốt nhất với protein đích tác động. Tiếp tục đánh giá tương tác giữa các phối tử mới được thiết kế và protein đích bằng tính toán năng lượng tự do gắn kết (ΔG) cho đến khi thu được các dẫn chất tối ưu nhất.

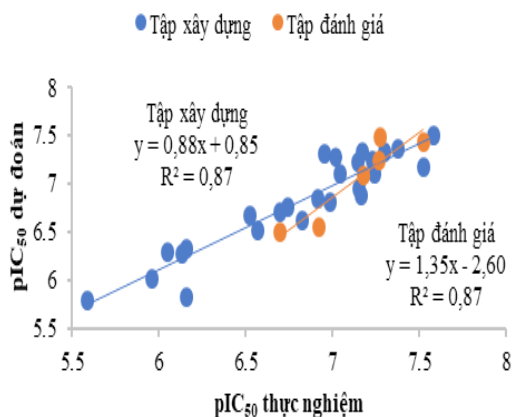
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Mô hình 2D-QSAR

Kết quả xây dựng và đánh giá mô hình 2D-QSAR được trình bày ở Bảng 1 và Hình 1.

Bảng 1. Mô hình 2D-QSAR được phát triển trong nghiên cứu

$plC_{50} = 22,01649 - 31,71352 \times \text{petitjean} + 2,87619 \times \text{BCUT_SLOGP_1} + 2,21249 \times \text{GCUT_SLOGP_2} + 0,09717 \times \text{chiral_u} + 0,00000 \times a_nBr + 0,23426 \times a_nN - 0,55677 \times \text{balabanJ} + 0,08511 \times \text{PEOE_VSA-2} + 3,45675 \times \text{PEOE_VSA_FNEG}$							
Đánh giá nội					Đánh giá ngoại		
Số chất	RMSE	R^2	XRMSE	XR^2	Số chất	RMSE	R^2
26	0,18	0,87	0,29	0,70	06	0,19	0,87



Hình 1. Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa giá trị pIC_{50} thực nghiệm và pIC_{50} dự đoán từ mô hình 2D-QSAR đã xây dựng được.

Trong Bảng 1 được trình bày ở trên:

petitjean: là thông số thuộc nhóm ma trận kề và ma trận khoảng cách (Adjacency and Distance Matrix Descriptors) có giá trị bằng (đường kính đồ thị – bán kính đồ thị)/đường kính đồ thị. Trong đó, Petitjean (34) định nghĩa độ lệch tâm của một đỉnh là đường đi dài nhất từ đỉnh đó đến bất kỳ đỉnh nào khác trong đồ thị. Bán kính đồ thị là độ lệch tâm đỉnh nhỏ nhất trong đồ thị và đường kính đồ thị là độ lệch tâm đỉnh lớn nhất. Các giá trị này được tính toán bằng ma trận khoảng cách. (Ma trận kề của một cấu trúc hóa học được xác định bởi toán tử [Mij] trong đó Mij bằng 1 nếu các nguyên tử i và j liên kết với nhau và bằng không nếu chúng không liên kết với nhau. Ma trận khoảng cách của một cấu trúc hóa học được xác định bởi toán tử [Dij] trong đó Dij là độ dài của đường đi ngắn nhất từ nguyên tử i đến j; toán tử này có giá trị bằng không nếu các nguyên tử i và j không thuộc cùng một thành phần liên kết) (15).

BCUT_SLOGP_1: là thông số BCUT sử dụng sự đóng góp của nguyên tử đối với logP (phương pháp Wildman và Crippen SlogP (35)) thay vì điện tích từng phần. Thông số BCUT là các thông số được phát triển bởi Pearlman (36). Đây là các thông số thu được từ các giá trị riêng âm và dương của ma trận kề, tính trọng số của các toán tử nằm trên đường chéo đối với trọng lượng nguyên tử (15).

GCUT_SLOGP_2: là thông số GCUT sử dụng sự đóng góp của nguyên tử đối với logP (phương pháp Wildman và Crippen SlogP (35)) thay vì điện tích từng phần. Thông số GCUT là các thông số được tính toán từ các giá trị riêng của ma trận kề khoảng cách đồ thị hiệu chỉnh. Mỗi mục nhập ij của ma trận

kề nhận giá trị $1/(dij)^2$ trong đó dij là khoảng cách đồ thị (hiệu chỉnh) giữa các nguyên tử i và j (15).

chiral_u: thông số về số trung tâm bất đối không bị hạn chế cấu hình (15).

a_nBr: thông số về số nguyên tử Br trong phân tử (15).

a_nN: thông số về số nguyên tử N trong phân tử (15).

balabanJ: chỉ số tô pô kết nối được đề xuất bởi Balaban (37).

PEOE_VSA-2: thuộc nhóm thông số điện tích từng phần (Partial Charge Descriptors). Phương pháp cân bằng một phần độ âm điện orbital (Partial Equalization of Orbital Electronegativities, PEOE) (38) sử dụng để tính toán điện tích từng phần là phương pháp trong đó điện tích được chuyển giữa các nguyên tử liên kết cho đến khi cân bằng. PEOE_VSA-2 cho biết tổng điện tích bề mặt *Van der Waals* của phân tử với chỉ số điện tích từng phần trong khoảng [-0,15,-0,10] (15).

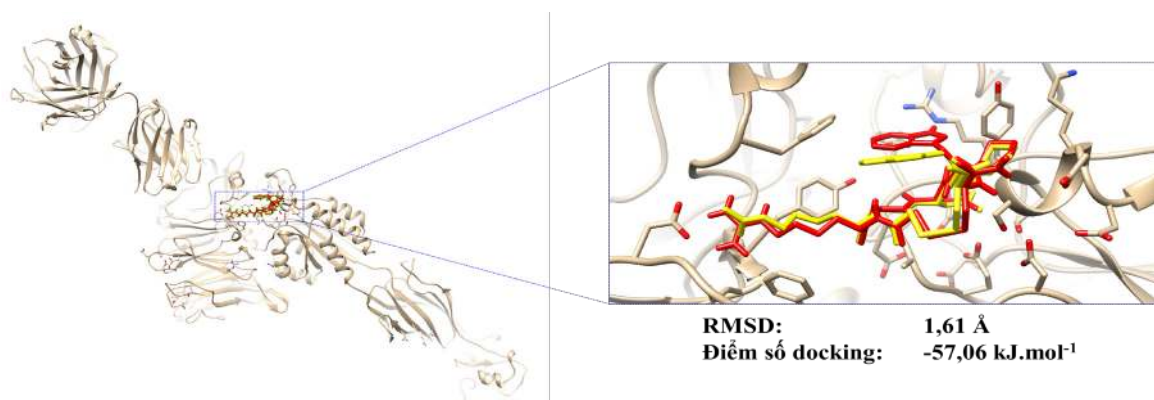
PEOE_VSA_FNEG: thông số điện tích bề mặt *Van der Waals* phân đoạn âm. Đây là tổng điện tích bề mặt *Van der Waals* của các nguyên tử trong đó điện tích từng phần của mỗi nguyên tử có giá trị âm và bị chia bởi tổng điện tích bề mặt. Điện tích bề mặt *Van der Waals* của mỗi nguyên tử được tính dựa vào bảng ước lượng (15).

Mô hình 2D-QSAR cho thấy giá trị pIC_{50} phụ thuộc vào các thông số mô tả liên quan đến số lượng các nguyên tử và số lượng các liên kết, mỗi liên kết giữa các nguyên tử với nhau, diện tích bề mặt có điện tích riêng phần tương ứng. Những dẫn chất có các giá trị BCUT_SLOGP_1, GCUT_SLOGP_2, *a_nN*, PEOE_VSA-2 càng lớn và/hoặc các giá trị *petitjean*, *chiral_u*, *balabanJ*, PEOE_VSA_FNEG càng nhỏ thì dẫn chất đó sẽ có giá trị pIC_{50} càng lớn, tức là có hoạt tính sinh học càng cao.

Kết quả đánh giá cũng cho thấy mô hình 2D-QSAR xây dựng được trong nghiên cứu này đạt yêu cầu ở các thông số đánh giá ở cả đánh giá nội và đánh giá ngoại và có thể sử dụng mô hình 2D-QSAR đã xây dựng để dự đoán tốt hoạt tính sinh học của các dẫn chất mới.

3.2. Mô hình docking phân tử

Kết quả docking lại phức hợp protein đồng kết tinh 2VDN được trình bày ở Hình 2 cho thấy mô hình docking phân tử được thẩm định và đạt tiêu chuẩn là một mô hình đáng tin cậy để giải thích khả năng gắn kết của các phối tử vào vị trí tác động của receptor GP IIb/IIIa.



Hình 2. Xếp chồng cấu dạng docking lại của eptifibatid và cấu dạng của dẫn chất này có sẵn trong tinh thể protein đồng kết tinh của receptor GP IIb/IIIa (tinh thể 2VDN).

3.3. Sàng lọc ảo

Thực hiện quá trình sàng lọc ảo sử dụng thư viện các dẫn chất flavonoid và curcumin đã được phát triển trước đó (30). Thư viện các dẫn chất được sàng lọc trước tiên bằng luật 5-Lipinski và công cụ SwissADME thu được một tập hợp các dẫn chất có đặc tính giống thuốc và có khả năng thẩm thấu qua đường tiêu hóa gồm 242 dẫn chất flavonoid và 18 dẫn chất curcumin. Tiếp tục sàng lọc tập dẫn chất

này bằng mô hình docking phân tử. Kết quả 18/18 dẫn chất curcumin và 210/242 dẫn chất flavonoid docking được vào đích tác động là receptor GP IIb/IIIa (tinh thể 2VDN). Hoạt tính sinh học của các dẫn chất này sau đó được dự đoán bằng mô hình 2D-QSAR. Kết quả thu được 45 dẫn chất tiềm năng, gồm 16 dẫn chất curcumin (**S1–S16**) và 29 dẫn chất flavonoid (**S17–S45**). Đây là các dẫn chất có điểm số docking tốt nhất và giá trị pIC₅₀ cao nhất (pIC₅₀ > 5, **Bảng 2**).

Bảng 2. Danh sách 45 dẫn chất tiềm năng thu được từ quá trình sàng lọc ảo

Dẫn chất	Điểm số docking (kJ.mol ⁻¹)	pIC ₅₀ dự đoán	Dẫn chất	Điểm số docking (kJ.mol ⁻¹)	pIC ₅₀ dự đoán	Dẫn chất	Điểm số docking (kJ.mol ⁻¹)	pIC ₅₀ dự đoán
S1	-26,29	5,78	S16	-20,38	6,21	S31	-22,77	7,76
S2	-29,07	5,79	S17	-26,37	7,66	S32	-27,41	7,76
S3	-20,43	6,72	S18	-25,27	7,57	S33	-25,45	7,71
S4	-20,57	6,77	S19	-22,56	7,97	S34	-24,82	7,71
S5	-21,69	6,23	S20	-22,90	7,87	S35	-29,90	7,69
S6	-18,71	5,15	S21	-22,22	7,84	S36	-22,14	7,69
S7	-21,19	6,33	S22	-20,37	7,72	S37	-24,56	7,59
S8	-19,93	6,05	S23	-22,77	7,67	S38	-25,93	7,59
S9	-20,93	6,27	S24	-21,82	7,82	S39	-23,12	7,80
S10	-18,76	5,19	S25	-27,18	8,00	S40	-24,96	7,78
S11	-21,25	6,15	S26	-23,53	7,90	S41	-24,76	7,72
S12	-25,09	6,30	S27	-28,68	7,86	S42	-22,36	7,69
S13	-20,15	6,27	S28	-25,29	7,84	S43	-23,29	7,66
S14	-18,39	6,20	S29	-25,85	7,83	S44	-22,98	7,64
S15	-20,52	5,13	S30	-27,61	7,78	S45	-23,99	7,58

3.4. Tối ưu hóa cấu trúc các dẫn chất

Dẫn chất **S4** được lựa chọn để tối ưu hóa cấu trúc thêm. Dẫn chất này có pIC₅₀ dự đoán là 6,77 cao nhất trong các dẫn chất curcumin, và có điểm

số docking là -20,57 kJ.mol⁻¹, với năng lượng tự do gắn kết ΔG = -12,04 kJ.mol⁻¹. Tiến hành tối ưu hóa cấu trúc dẫn chất **S4** bằng cách gắn thêm một nhóm thế –OH vào vị trí meta trên vòng benzen, thu được

dẫn chất **S4'** có năng lượng tự do gắn kết là $\Delta G = -21,74 \text{ kJ.mol}^{-1}$ và giá trị pIC_{50} tính toán là 6,64 (IC_{50} 227 nM). Dẫn chất này tạo thêm được một liên kết hydro với acid amin AspA159 nên có khả năng gắn kết tốt hơn với receptor tại vùng xúc tác. Giá trị pIC_{50} dự đoán bằng mô hình 2D-QSAR của dẫn chất này hầu như không thay đổi (**Bảng 3**), nhưng lại cho khả năng gắn kết trên receptor GP IIb/IIIa tốt hơn hẳn so với **S4** (**Hình 3**).

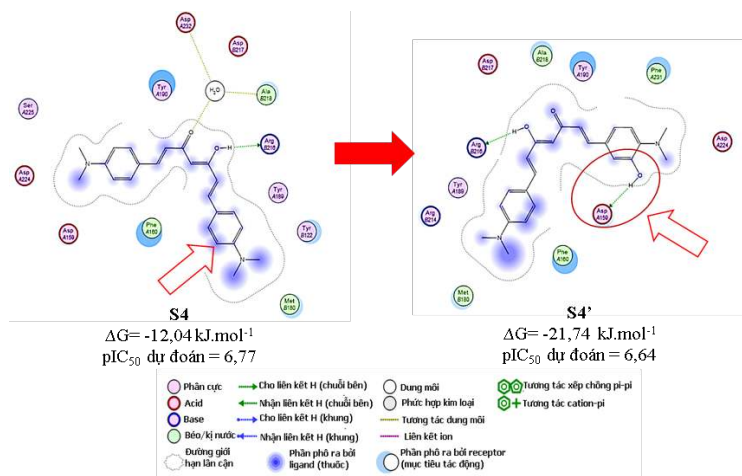
Trong 29 dẫn chất flavonoid, dẫn chất **S35** được lựa chọn để tối ưu hóa cấu trúc thêm. Dẫn chất này có điểm số docking là $-29,90 \text{ kJ.mol}^{-1}$, năng lượng tự do gắn kết $\Delta G = -7,15 \text{ kJ.mol}^{-1}$ và giá trị pIC_{50} là 7,69 (IC_{50} 20,42 nM). Tiến hành tối ưu hóa cấu trúc dẫn chất **S35** bằng cách gắn thêm một nhóm thế -F vào vị trí 3' của vòng B và loại bỏ nhóm thế -F ở vị trí số 7 trên vòng A, thu được dẫn chất **S35'**. Việc tối ưu hóa cấu trúc bằng cách biến đổi sang một dạng đồng phân khác của cấu trúc ban đầu có tiềm năng sẽ thu

được một dẫn chất có hoạt tính sinh học được dự đoán sẽ thay đổi không đáng kể so với dẫn chất ban đầu (do giá trị các thông số mô tả phân tử 2D của các đồng phân khác nhau không đáng kể), nhưng dẫn chất mới sẽ có bố trí không gian và định hướng gắn kết khác biệt đáng kể. Điều này sẽ dẫn đến cơ hội cao tìm được một chất mới có hoạt tính sinh học mạnh hơn trong thực tế. Thực vậy, dẫn chất **S35'** có năng lượng tự do gắn kết $\Delta G = -22,15 \text{ kJ.mol}^{-1}$ và giá trị pIC_{50} là 7,95 (IC_{50} 11,28 nM) (**Hình 4**, **Bảng 3**). Như vậy sau khi tối ưu hóa cấu trúc dẫn chất **S35** thu được dẫn chất mới vừa có khả năng gắn kết với đích tác động mạnh hơn vừa có hoạt tính sinh học được dự đoán cao hơn đôi chút so với **S35**.

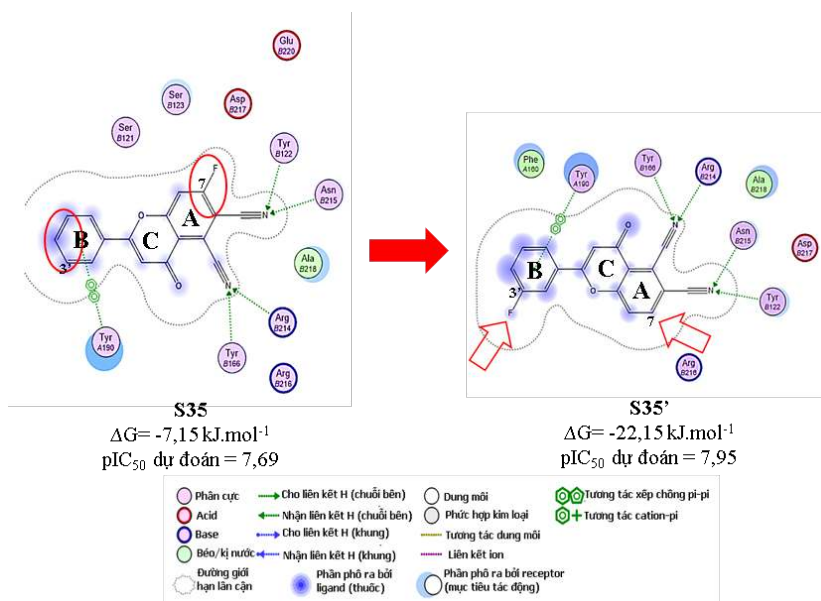
Hai dẫn chất thu được sau khi tối ưu hóa cấu trúc cũng được kiểm tra lại lần nữa với công cụ SwissADME. Kết quả cho thấy chúng vẫn thỏa mãn đặc tính giống thuốc và có khả năng thẩm thấu qua đường tiêu hóa.

Bảng 3. Hoạt tính sinh học được dự đoán của các dẫn chất được tính toán dựa trên mô hình 2D-QSAR xây dựng được

Dẫn chất	S4	S4'	S35	S35'
petitjean	0,50	0,50	0,45	0,45
BCUT_SLOGP_1	-0,51	-0,50	-0,53	-0,54
GCUT_SLOGP_2	0,14	0,12	0,21	0,26
chiral_u	0	0	0	0
a_nBr	0	0	0	0
a_nN	2	2	2	2
balabanJ	1,54	1,57	1,73	1,69
PEOE_VSA-2	0	0	0	0
PEOE_VSA_FNEG	0,62	0,6	0,47	0,52
pIC_{50} dự đoán	6,77	6,65	7,69	7,95



Hình 3. Quá trình tối ưu hóa cấu trúc dẫn chất **S4** để được dẫn chất **S4'** có khả năng gắn kết mạnh hơn với đích tác động và có hoạt tính sinh học được dự đoán thay đổi không đáng kể so với **S4**



Hình 4. Quá trình tối ưu hóa cấu trúc dẫn chất S35 để được dẫn chất S35' có khả năng gắn kết với đích tác động và hoạt tính sinh học được dự đoán cải thiện hơn so với S35

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và đánh giá được các mô hình *in silico*, bao gồm mô hình 2D-QSAR và mô hình docking phân tử, có khả năng dự đoán đáng tin cậy hoạt tính ức chế và khả năng gắn kết của các dẫn chất flavonoid và curcumin trên receptor GP IIb/IIIa. Ứng dụng các mô hình *in silico* này trong quá trình sàng lọc ảo, nghiên cứu đã thu được 18 dẫn chất curcumin và 210 dẫn chất flavonoid được

dự đoán có khả năng ức chế receptor GP IIb/IIIa với các đặc tính giống thuốc và đặc điểm dược động học tốt. Trong đó, 16 dẫn chất curcumin và 29 dẫn chất flavonoid là tiềm năng nhất. Từ quá trình tối ưu hóa cấu trúc, nghiên cứu đã thu được 2 dẫn chất mới có có hoạt tính ức chế và/hoặc khả năng gắn kết với receptor GP IIb/IIIa được cải thiện. Đây là những dẫn chất tiềm năng cho các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lee W, Lee S, Choi J, Park JH, Kim KM, Jee JG, et al. Antithrombotic properties of JJ1, a potent and novel thrombin inhibitor. *Sci Rep*. 2017;7(1):14862.
2. Vallance TM, Ravishankar D, Albadawi DA, Osborn HMI, Vaiyapuri S. Synthetic Flavonoids as Novel Modulators of Platelet Function and Thrombosis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12):3106.
3. Kam PC, Egan MK. Platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists: pharmacology and clinical developments. *Anesthesiology*. 2002;96(5):1237-49.
4. Hagemeyer CE, Peter K. Targeting the platelet integrin GPIIb/IIIa. *Current pharmaceutical design*. 2010;16(37):4119-33.
5. Joo SJ. Mechanisms of Platelet Activation and Integrin $\alpha IIb\beta 3$. *Korean circulation journal*. 2012;42(5):295-301.
6. Takagi J, Petre BM, Walz T, Springer TA. Global conformational rearrangements in integrin extracellular domains in outside-in and inside-out signaling. *Cell*. 2002;110(5):599-11.
7. Topol EJ, Byzova TV, Plow EF. Platelet GPIIb-IIIa blockers. *Lancet (London, England)*. 1999;353(9148):227-31.
8. Hewlings SJ, Kalman DS. Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health. *Foods*. 2017;6(10):92.
9. Veeresham C. Natural products derived from plants as a source of drugs. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*. 2012;3(4):200-1.
10. Faggio C, Sureda A, Morabito S, Sanches-Silva A, Mocan A, Nabavi SF, et al. Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *European journal of pharmacology*. 2017;807:91-101.
11. Vazhappilly CG, Ansari SA, Al-Jaleeli R, Al-Azawi AM, Ramadan WS, Menon V, et al. Role of flavonoids in thrombotic, cardiovascular, and inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*. 2019;27(5):863-9.
12. Liu G, Xie W, He AD, Da XW, Liang ML, Yao GQ, et al. Antiplatelet activity of chrysin via inhibiting platelet $\alpha IIb\beta 3$ -mediated signaling pathway. *Molecular nutrition & food research*. 2016;60(9):1984-93.
13. Keihanian F, Saeidinia A, Bagheri RK, Johnston TP, Sahebkar A. Curcumin, hemostasis, thrombosis, and coagulation. *J Cell Physiol*. 2018;233(6):4497-511.
14. Tabeshpour J, Hashemzadei M, Sahebkar A. The

regulatory role of curcumin on platelet functions. *Journal of cellular biochemistry*. 2018;119(11):8713-22.

15. MOE. 2008.10 edition. Chemical Computing Group Inc. SSW, Suite 910, Montreal, Quebec, Canada H3A 2R7. [cited 20 May 2021]. Available from: <https://www.chemcomp.com>.

16. RapidMiner 5.3.013. [cited 20 May 2017]. Available from: <https://rapidminer.com/>.

17. LeadIT 2.0.2. [cited 20 May 2021]. Available from: <https://www.biosolveit.de/LeadIT/>.

18. Weka software 3.8. [cited 20 May 2017]. Available from: <https://waikato.github.io/weka-wiki/>.

19. ChemBioDraw Ultra 11.0 2008. [cited 20 May 2017]. Available from: <https://perkinelmerinformatics.com/products/research/chemdraw/>.

20. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017;7(1):42717.

21. Mousa SA, Bozarth JM, Forsythe MS, Jackson SM, Leamy A, Diemer MM, et al. Antiplatelet and antithrombotic efficacy of DMP 728, a novel platelet GPIIb/IIIa receptor antagonist. *Circulation*. 1994;89(1):3-12.

22. Wang X, Dorsam RT, Lauver A, Wang H, Barbera FA, Gibbs S, et al. Comparative analysis of various platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists on shear-induced platelet activation and adhesion. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2002;303(3):1114-20.

23. Aoki T, Cox D, Senzaki K, Seki J, Tanaka A, Takasugi H, et al. Comparison of the antithrombotic effects of FK633, GPIIb/IIIa antagonist, and aspirin in a guinea pig thrombosis model. *Thrombosis research*. 1998;89(3):129-36.

24. Xie Z, Zhao L, Ding X, Kong Y, Li Z. Design, synthesis and evaluation of 1,4-benzodioxine derivatives as novel platelet aggregation inhibitors. *Future Med Chem*. 2018;10(4):367-78.

25. Xie Z, Oscar B, Zhao L, Ding X, Cao C, Feng S, et al. Design, synthesis and evaluation of novel 2-amino-3-(naphth-2-yl)propanoic acid derivatives as potent inhibitors of platelet aggregation. *European journal of medicinal chemistry*. 2017;125:197-209.

26. Mehrotra MM, Heath JA, Smyth MS, Pandey A, Rose JW, Seroogy JM, et al. Discovery of novel 2,8-diazaspiro[4.5]decanes as orally active glycoprotein IIb-IIIa antagonists. *Journal of medicinal chemistry*. 2004;47(8):2037-61.

27. Priora R, Margaritis A, Frosali S, Coppo L, Summa D, Di Giuseppe D, et al. In vitro inhibition of human and rat platelets by NO donors, nitrosoglutathione, sodium nitroprusside and SIN-1, through activation of cGMP-independent pathways. *Pharmacological research*. 2011;64(3):289-97.

28. Alig L, Edenhofer A, Hadvary P, Hurzeler M, Knopp D, Muller M, et al. Low molecular weight, non-peptide fibrinogen receptor antagonists. *Journal of medicinal chemistry*. 1992;35(23):4393-407.

29. Li J, Vootukuri S, Shang Y, Negri A, Jiang JK, Nedelman M, et al. RUC-4: a novel α IIb β 3 antagonist for prehospital therapy of myocardial infarction. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2014;34(10):2321-9.

30. Tran T-S, Le M-T, Tran T-D, Tran T-H, Thai K-M. Design of Curcumin and Flavonoid Derivatives with Acetylcholinesterase and Beta-Secretase Inhibitory Activities Using in Silico Approaches. *Molecules*. 2020;25(16):3644.

31. Chen H, Lyne PD, Giordanetto F, Lovell T, Li J. On evaluating molecular-docking methods for pose prediction and enrichment factors. *J Chem Inf Model*. 2006;46(1):401-15.

32. Mukherjee S, Balius TE, Rizzo RC. Docking validation resources: protein family and ligand flexibility experiments. *J Chem Inf Model*. 2010;50(11):1986-2000.

33. Protein Data Bank. [cited 20 May 2021]. Available from: <https://www.rcsb.org/structure/2VDN>.

34. Petitjean M. Applications of the radius-diameter diagram to the classification of topological and geometrical shapes of chemical compounds. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1992;32(4):331-7.

35. Wildman SA, Crippen GM. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1999;39(5):868-73.

36. Pearlman RS, Smith KM. Novel software tools for chemical diversity. *Perspectives in Drug Discovery and Design*. 1998;9(0):339-53.

37. Balaban AT. Highly discriminating distance-based topological index. *Chemical Physics Letters*. 1982;89(5):399-404.

38. Gasteiger J, Marsili M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*. 1980;36(22):3219-28.