

**SÀNG LỌC MỘT SỐ HỢP CHẤT ALKALOID ỨC CHẾ EGFR
BẰNG PHƯƠNG PHÁP DOCKING PHÂN TỬ
ĐỊNH HƯỚNG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ PHỔI**

*Lê Thị Hương¹, Phan Đăng Hải¹, Vũ Mạnh Hùng²
Phan Hồng Minh¹, Bùi Thanh Tùng^{1*}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Sàng lọc các hợp chất thuộc nhóm alkaloid nhằm tìm ra các chất có khả năng ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor - EGFR) định hướng điều trị ung thư phổi với hiệu quả điều trị cao, ít tác dụng phụ so với các phương pháp khác như hóa trị, xạ trị. **Phương pháp nghiên cứu:** Sử dụng phương pháp docking phân tử nhằm sàng lọc các hợp chất alkaloid có tác dụng ức chế thụ thể EGFR trong điều trị ung thư phổi. **Kết quả:** Từ 50 hợp chất ban đầu, sàng lọc được 6 hợp chất có năng lượng liên kết thấp hơn chất đối chứng dương là Gefitinib. Sau đó, chúng tôi tiến hành đánh giá các đặc tính giống thuốc sử dụng quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski và dự đoán thông số dược động học - độc tính (ADMET) thu được 3 hợp chất là Berberine Chloride, Tetrahydroberberine và Coptisine Chloride với các đặc điểm nổi trội: Hấp thu và phân bố tốt qua màng, chuyển hóa qua gan, thải trừ qua thận và ít độc tính. **Kết luận:** Berberine Chloride, Tetrahydroberberine và Coptisine Chloride là các hợp chất tiềm năng và cần được tiếp tục nghiên cứu để phát triển thành các thuốc điều trị ung thư phổi.

Từ khóa: Alkaloid; EGFR; Docking phân tử; Ung thư phổi không tế bào nhỏ.

**SCREENING *IN SILICO* EGFR RECEPTOR INHIBITORY ACTIVITY
OF FLAVONOID COMPOUNDS IN THE TREATMENT
OF LUNG CANCER**

Abstract

Objectives: To screen the alkaloid group to find compounds capable of inhibiting epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung cancer treatment

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Bùi Thanh Tùng (tungbt.ump@vnu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 22/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.478>

with high treatment effectiveness and few side effects compared to chemotherapy and radiation therapy. **Methods:** The Molecular docking method was used to screen alkaloid compounds that inhibited EGFR receptors in the treatment of lung cancer. **Results:** From 50 compounds, we screened 6 compounds with lower binding energies than the positive control Gefitinib. Then, we evaluated the drug-like properties using five criteria of the Lipinski rule and predicted pharmacokinetic-toxicity parameters (ADMET) to obtain 3 compounds: Berberin chloride, Tetrahydroberberin, and Coptisine chloride with good membrane absorption and distribution, metabolism by the liver, renal excretion, and low toxicity. **Conclusion:** These potential compounds need further research to develop into drugs to treat lung cancer.

Keywords: Alkaloid; EGFR; Molecular Docking; Non-small cell lung cancer (NSCLC).

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, ung thư phổi đang là một trong những bệnh ung thư phổ biến và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Năm 2020, số ca mắc mới và tử vong do ung thư phổi trên thế giới vẫn chiếm tỷ lệ cao tương ứng với khoảng 2,2 triệu ca và 1,8 triệu ca [1]. Tại Mỹ, năm 2023 ước tính số ca mắc mới và tử vong do ung thư phổi ở cả 2 giới lần lượt là 238.340 ca và 127.070 ca [2]. Tại Việt Nam, thống kê cho thấy có khoảng 26.262 ca mắc mới và 23.797 ca tử vong trong năm 2020, chiếm khoảng 14,4% và 19,4% tổng số ca. Tỷ lệ tử vong do ung thư phổi đứng thứ 2 sau ung thư vú đối với nữ giới và sau ung thư gan đối với nam giới, đặc biệt ở độ tuổi ≥ 45 chiếm tỷ lệ cao.

Thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì là một trong bốn thành viên họ ERBB của thụ thể tyrosine kinase (RTK) [3]. EGFR kích hoạt một loạt các đường nội bào dẫn đến tăng sinh tế bào ung thư, ngăn chặn quá trình apoptosis, kích hoạt sự xâm lấn và di căn, đồng thời kích thích tân tạo mạch máu do khối u [4]. Kết quả của một số nghiên cứu đã cho thấy, đột biến kích hoạt gen EGFR có mặt chủ yếu trong bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC). Hai loại thuốc được nghiên cứu rộng rãi nhất cho đến nay bao gồm các kháng thể đơn dòng và các hợp chất phân tử nhỏ. Tuy nhiên, các phương pháp này kém hiệu quả trong việc ức chế các dạng đột biến của EGFR.

Alkaloid là một lớp lớn các phân tử hữu cơ tự nhiên, có cấu trúc hóa học

rất đa dạng với hơn 20.000 phân tử khác nhau trong sinh vật. Chúng có mặt trong cuộc sống hàng ngày của con người, trong đồ ăn, thức uống, chất kích thích, chất gây nghiện, đồng thời là thuốc chữa bệnh chống ung thư, ngăn ngừa các bệnh về tim mạch và chất diệt côn trùng [5]. Một số alkaloid từ cây thuốc và thảo dược cho thấy tác dụng chống tăng sinh và chống ung thư trên cả *in vitro* và *in vivo* với phạm vi thử nghiệm rộng như Camptothecin, Aplicyanins, Sanguinarine. Ngày nay, các alkaloid đã được sử dụng trong điều trị ung thư phổi, đặc biệt là việc áp dụng công nghệ nano giúp tăng cường sinh khả dụng, kéo dài thời gian lưu thuốc, nâng cao hiệu quả điều trị và giảm độc tính [6]. Đây là nhóm hợp chất vô cùng tiềm năng và phổ biến. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Sàng lọc các hợp chất thuộc nhóm alkaloid nhằm tìm ra các chất có khả năng ức chế thụ thể EGFR, định hướng điều trị ung thư phổi với hiệu quả điều trị cao, ít tác dụng phụ so với các phương pháp khác như: Hóa trị, xạ trị.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mô hình docking

* *Chuẩn bị cấu trúc protein:* Cấu trúc của thụ thể EGFR (PDB ID: 6DUK) được tải về từ cơ sở dữ liệu protein

RCSB (<https://www.rcsb.org/>) dưới định dạng pdb. Sau đó, chúng tôi tiến hành loại bỏ phối tử đồng kết tinh là (2R)-2-(5-fluoro-2-hydroxyphenyl)-2-{1-oxo-6-[4-(piperazin-1-yl)phenyl]-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl}-N-(1,3-thiazol-2-yl) acetamide và phosphoaminophosphonic acid-adenylate ester, các phân tử nước và phân tử nền trong phức hợp cũng được loại bỏ bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Đồng thời, sử dụng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. để thêm các nguyên tử hydro vào protein và tính toán điện tích Kollmans. Vùng hoạt động của EGFR được lựa chọn dựa trên các acid amin quan trọng và giới hạn bởi hộp lưới có kích thước 40 x 44 x 40Å, khoảng cách giữa các ô lưới là 0,375Å với tọa độ trục (x; y; z) = (42,148; 93,049; -63,352). Cuối cùng, protein được chuyển về định dạng pdbqt.

* *Chuẩn bị cấu trúc phối tử:* Các hợp chất alkaloid được thu thập và tải về từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dưới định dạng sdf. Sau đó được chuyển về định dạng pdb bằng phần mềm Chimera và tối ưu hóa năng lượng bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate Gradients). Cuối cùng, các hợp chất được chuyển thành định dạng file pdbqt bằng phần mềm Autodock Tools.

2. Đánh giá kết quả docking

Để thực hiện quá trình redock, phối tử đồng tinh thể sẽ được tách ra khỏi protein và sau đó được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu để đánh giá mức độ chònh khít của phối tử trước và sau docking thông qua giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD). Nếu giá trị này $< 1,5\text{\AA}$ thì quá trình docking được coi là đáng tin cậy. Đối với các chất cần docking, khả năng ức chế protein mục tiêu được đánh giá bằng điểm số docking và tương tác với các acid amin quan trọng trong hóc phản ứng so với hợp chất chứng dương. Tương tác phân tử giữa các hợp chất có năng lượng liên kết tốt với protein mục tiêu được thể hiện bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 2020.

3. Đánh giá quy tắc Lipinski 5

Quy tắc Lipinski 5 tiêu chí được sử dụng để đánh giá một hợp chất có hoặc không có đặc tính giống thuốc thông qua các tiêu chí: Trọng lượng phân tử, số nhóm cho/nhận liên kết hydro, logP và độ khúc xạ MR. Một phân tử hợp chất được cho là có khả năng trở thành thuốc dùng đường uống khi đáp ứng từ 2 trong 5 tiêu chí trở lên. Chúng tôi sử dụng công cụ online (<http://www.scbioitd.res.in/software/drugdesign/>

lipinski.jsp) và cấu trúc hóa học được tải từ cơ sở dữ liệu Pubchem (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) của các hợp chất để đánh giá.

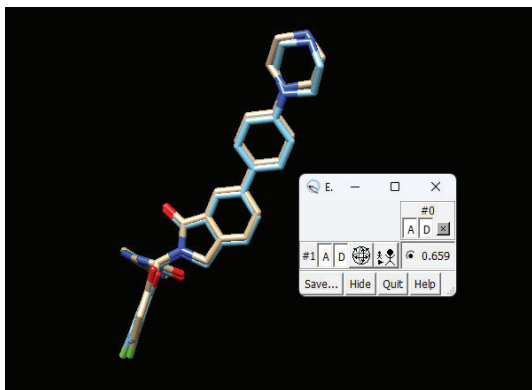
4. Dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET)

ADMET là mô hình giúp dự đoán các đặc tính về dược động học và độc tính của 1 hợp chất bao gồm: Hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng pkCSM là công cụ dự đoán ADMET trực tuyến (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) với dữ liệu đầu vào là công thức SMILE của các hợp chất được tải xuống từ cơ sở dữ liệu PubChem.

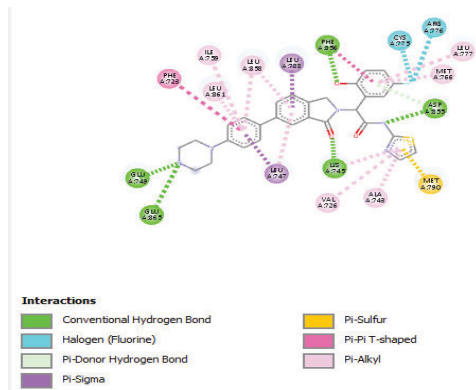
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đánh giá mô hình docking

Để đánh giá độ tin cậy của quá trình docking, chúng tôi đã xác định RMSD bằng cách redock phối tử đồng kết tinh vào lại vị trí hoạt động của protein bằng phần mềm Chimera. Kết quả thu được $\text{RMSD} = 0,659\text{\AA} < 1,5\text{\AA}$, chứng tỏ quá trình docking các hợp chất vào protein là đáng tin cậy. Giá trị RMSD và tương tác 2D giữa phối tử đồng kết tinh với EGFR tại vùng hoạt động được thể hiện tương ứng trong hình 1 và hình 2.



Hình 1. RMSD của phối tử đồng kết tinh trước và sau khi docking.



Hình 2. Tương tác của phối tử đồng kết tinh với EGFR.

2. Kết quả docking

Sau khi đã chuẩn bị phối tử và protein, chúng tôi tiến hành docking 50 hợp chất alkaloid và hợp chất chướng dương là Gefitinib với thụ thể EGFR. Kết quả thu được 6 hợp chất thỏa mãn có năng lượng liên kết thấp hơn so với chất chướng dương và được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả docking của 6 hợp chất alkaloid thỏa mãn.

STT	Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kCal/mol)
1	Beberine chlorid	-8,9
2	Coptisine chloride	-10,2
3	Rutaecarpine	-9,7
4	Sanguinarine chloride	-10,9
5	Tetrahydroberberine	-9,4
6	Tetrandrine	-9,0
+	Gefitinib (Chất đối chứng)	-8,7

Từ kết quả thu được ở bảng 1 và so sánh năng lượng liên kết của 50 hợp chất với chất chứng dương là Gefitinib (-8,7 kCal/mol), chúng tôi thu được 6 hợp chất có điểm số docking tốt nhất và có khả năng ức chế protein đích với năng lượng liên kết thấp hơn chất chứng dương là: Beberine chlorid (-8,9 kCal/mol), Coptisine chloride (-10,2 kCal/mol), Rutaecarpine (-9,7 kCal/mol), Sanguinarine chloride (-10,9 kCal/mol), Tetrahydroberberine (-9,4 kCal/mol) và Tetrandrine (-9,0 kCal/mol).

Gefitinib là một chất ức chế thụ thể tyrosine kinase của yếu tố tăng trưởng biểu bì chọn lọc và được sử dụng để điều trị ung thư phổi. Vào ngày

13/7/2015, FDA đã phê duyệt gefitinib để điều trị cho bệnh nhân NSCLC di căn khối u có đột biến exon 19 hoặc đột biến thay thế exon 21 (L858R). Theo nghiên cứu của Noronha Vanita và CS, việc kết hợp giữa Gefitinib, Pemetrexed và Carboplatin được xem như một liệu pháp điều trị đầu tay mới cho NSCLC đột biến EGFR giúp kéo dài thời gian sống và ức chế sự tiến triển của bệnh. Tuy nhiên, việc kết hợp này cũng đồng thời làm tăng độc tính của thuốc trên bệnh nhân mắc NSCLC. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng Gefitinib làm chất đối chứng dương tính để so sánh giá trị năng lượng liên kết và khả năng tương tác thụ thể EGFR với các hợp chất thuộc nhóm alkaloid.

3. Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí Lipinski

Bảng 2. Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí Lipinski.

STT	Tên hợp chất	Phân tử khối	HBD	HBA	LogP	MR
1	Berberin chlorid	336	0	4	3,89	94,72
2	Coptisine Chloride	320	0	4	2,58	84,60
3	Sanguinarine chloride	332	0	4	3,43	92,38
4	Rutaecarpine	287	1	3	3,26	85,68
5	Tetrahydroberberine	339	0	5	2,62	90,80
6	Tetrandrine	622	0	8	6,61	176,80

Các hợp chất đáp ứng tiêu chí của 1 thuốc dùng đường uống khi chúng thỏa mãn ít nhất 2 trong 5 tiêu chí của quy tắc 5 tiêu chí Lipinski: Khối lượng phân tử

< 500Da; 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 phải nằm trong khoảng 40 - 130.

Dựa vào kết quả bảng 2, tất cả 6 hợp chất đều thỏa mãn quy tắc 5 tiêu chí Lipinski. Các hợp chất này tiếp tục được đánh giá các đặc tính về dược động học - độc tính bằng dự đoán ADMET.

4. Dự đoán các thông số ADMET

Chúng tôi sử dụng công cụ trực tuyến pkCSM để dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET) đối với các hợp chất có đặc tính “giống thuốc, thỏa mãn tiêu chí Lipinski. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích các thông số ADMET.

Thông số	Tetrahydroberberine	Sanguinarine chloride	Rutaecarpine	Berberin chlorid	Coptisine Chloride	Tetrandrine
Độ tan trong nước (log mol/L)	2,789	-4,848	-3,459	-3,06	-3,062	-4,107
Hấp thu						
Tính thấm màng CaCo2 (logPapp trong 10^6 cm/s)	1,626	1,05	1,26	0,88	1,084	0,839
Hấp thu ở ruột (người) (%)	92,559	70,472	97,294	79,298	79,021	93,149
Tính thấm qua da	-2,93	-2,714	-2,739	-2,622	-2,646	-2,735
Phân bố						
Thể tích phân bố (người) (VDss) (logL/kg)	0,952	0,142	-0,061	0,385	0,429	-0,624
Tính thấm hàng rào máu não (logBB)	0,13	0,41	0,669	0,241	0,163	-0,618
Tính thấm hệ thần kinh trung ương (log PS)	-1,832	-1,405	-1,795	-1,529	-1,52	-2,27

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023

	Thông số	Tetrahydroberberine	Sanguinarine chloride	Rutaecarpine	Berberin chlorid	Coptisine Chloride	Tetrandrine
Chuyển hóa	Cơ chất CYP2D6	Không	Không	Không	Không	Không	Không
	Cơ chất CYP3A4	Có	Có	Có	Có	Có	Có
	Ức chế CYP2D6	Có	Không	Không	Không	Không	Không
	Ức chế CYP3A4	Không	Có	Có	Không	Không	Không
Thải trừ	Độ thanh thải toàn phần (log mL/min/kg)	1,144	1,406	0,756	1,618	1,605	0,71
	Cơ chất OCT2 trong thận	Không	Không	Không	Không	Có	Không
Độc tính	Độc tính AMES	Không	Có	Có	Có	Không	Có
	Ức chế hERG I	Không	Không	Không	Không	Không	Không
	Ức chế hERG II	Có	Có	Có	Có	Không	Có
	Độc tính gan	Có	Không	Có	Có	Có	Không
	Kích ứng da	Không	Không	Không	Không	Không	Không

Về quá trình hấp thu, tính thấm qua màng CaCO_2 ($\log P_{app}$ trong 10^{-6} cm/s) và khả năng hấp thu ở ruột người (HIA) là 2 thông số quan trọng của quá trình hấp thu. Giá trị $\text{CaCO}_2 > 0,9$ và HIA $> 30\%$ được cho là hợp chất có tính thấm tốt qua màng và hấp thu tốt tại ruột. Bảng 3 cho thấy tất cả 6 hợp chất đều có khả năng thấm khá tốt qua màng CaCO_2 , đặc biệt là Tetrahydroberberine ($1,626 \log P_{app}$ trong 10^{-6} cm/s). Về khả năng hấp thu ở ruột người, tất cả các hợp chất đều cho kết quả tốt ($> 30\%$); trong đó, Rutaecarpine có khả năng hấp thu tốt nhất (97,294%)

Về phân bố, thể tích phân bố ở trạng thái ổn định (VDss) là thể tích lý thuyết của thuốc cần đạt để phân bố với nồng độ như trong huyết tương. Giá trị VD càng cao thì thuốc phân bố trong mô càng nhiều. Cụ thể, khi giá trị $\log VD_{ss} > 0,45$ được gọi là phân bố tốt và phân bố kém nếu $\log VD_{ss} < -0,15$. Bảng 3 cho thấy có 3 hợp chất là Tetrahydroberberine, Berberin chlorid và Coptisine chloride có khả năng phân bố tốt với giá trị VDss lần lượt là 0,952; 0,385 và 0,429. Ngoài ra, giá trị $\log BB$ cho biết khả năng phân bố vào não của một loại thuốc. Đây là thông số quan trọng giúp đánh giá độc tính, tác dụng phụ cũng như cải thiện các đặc tính dược lý của thuốc trong điều trị các bệnh về não. Các thuốc có giá trị $\log BB > 0,3$ có khả năng qua hàng rào máu não tốt và $\log BB < -1$ là phân bố kém đến não. Bên cạnh đó, tính thấm qua hệ thần kinh trung ương (CNS) được đánh giá thông qua giá trị $\log PS$. Nếu giá trị này > -2 thì thuốc được cho là có khả năng qua được hệ thần kinh trung ương và ngược lại, $\log PS < -3$ chứng tỏ hợp chất không có khả năng xâm nhập vào CNS. Theo bảng 3, hai hợp chất Sanguinarine và Rutaecarpine có khả năng thấm tốt qua hàng rào máu não với giá trị $\log BB$ lần lượt là 0,41 và 0,669. Tất cả các hợp chất (trừ Tetrandrine) có khả năng thấm tốt qua hệ thần kinh trung ương.

Về chuyển hóa, hệ cytochrome P450 là hệ enzym có chức năng giải độc quan trọng trong cơ thể, chủ yếu có ở gan với 2 CYP quan trọng là CYP3A4 và CYP2D6. Tất cả 6 hợp chất đều là cơ chất của CYP3A4. Ngoài ra, Sanguinarine chloride và Rutaecarpine là 2 hợp chất ức chế CYP3A4; vì vậy, cần chú ý khi sử dụng cùng với các thuốc có chuyển hóa qua enzym này.

Về thải trừ, cả 6 hợp chất đều có mức độ thải trừ tốt. Chỉ có Coptisine chloride là cơ chất của OCT2 (chất vận chuyển cation hữu cơ 2) đóng vai trò quan trọng trong việc xử lý và đào thải thuốc cùng các chất nội sinh qua thận. Vì vậy, cần chú ý khi sử dụng đồng thời Coptisine chloride với các thuốc ức chế OCT2.

Về độc tính, độc tính AMES giúp dự đoán khả năng đột biến dẫn đến ung thư. Chỉ có Tetrahydroberberine và Coptisine chloride không có độc tính AMES. Tetrandrine và Sanguinarine là 2 hợp chất cho thấy không có khả năng gây độc tính trên gan. Tất cả các hợp chất (trừ Coptisine chloride) đều cho kết quả dự đoán ức chế hERG II; vì vậy, có khả năng gây độc tính trên tim. Ngoài ra, tất cả các hợp chất đều không gây kích ứng da.

Sau khi phân tích kết quả ADMET, chúng tôi thu được 3 hợp chất tiềm năng nhất là Berberin chlorid, Tetrahydroberberine và Coptisine chloride với các đặc tính dược động học khả quan: Tính thấm qua màng và khả năng hấp thu ở ruột tốt, thể tích phân bố tốt, thải trừ nhanh qua thận và không gây kích ứng da. Tuy nhiên, dự

đoán về độc tính của các hợp chất này cần được đánh giá và nghiên cứu sâu hơn để khắc phục và cải thiện những nhược điểm này.

Tương tác giữa Gefitinib và 3 hợp chất tiềm năng với các acid amin trong vùng hoạt động của EGFR được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả tương tác giữa các acid amin của 3 hợp chất vào trung tâm hoạt động của protein.

Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kCal/mol)	Các acid amin tạo liên kết
Berberin chloride	-8,9	Liên kết Hydro: LYS745 Liên kết Cacbon-Hydro: ASP855, LEU861 Liên kết π - π : PHE723 Liên kết π -alkyl: LEU858, LEU862, LEU747, LEU788
Tetrahydroberberine	-9,4	Liên kết Hydro: ASP842 Liên kết π - σ : VAL726 Liên kết Cacbon-Hydro: GLN791, LYN796 Liên kết π -Sulfur: MET790 Liên kết π -alkyl: ALA743, MET793, LEU792, LEU718, LEU844, ARG841
Coptisine Chloride	-10,2	Liên kết Cacbon-Hydro: ASP855, LEU861 Liên kết π -alkyl: LEU788, MET766, LEU777, LEU747, LEU858
Gefitinib	-8,7	Liên kết Hydro: LYS745, CYS797 Liên kết alkyl: LEU844, ALA743, VAL726 Liên kết π -Sulfur: MET790 Liên kết Halogen: LEU788

Theo bảng 4, khi so sánh tương tác của 3 hợp chất tiềm năng và chất chứng dương với đích EGFR, có thể thấy liên kết phối tử-acid amin của hầu hết các hợp chất cũng tương tự nhau. Đó là những acid amin quan trọng như LYS745, LEU788, LEU858 và LEU861. Trong đó, hợp chất Tetrahydroberberine cho thấy có nhiều tương tác tương tự chất chứng dương do liên kết với các acid amin VAL726, ALA743, LEU788, MET790 và LEU844. Ngoài ra, 2 hợp chất còn lại là Berberine chlorid và Coptisine chloride cũng có sự tương tác với thụ thể EGFR thông qua những amino acid tương tự nhau như: LEU861, LEU858, LEU747 và MET766; chủ yếu là các liên kết π -alkyl.

BÀN LUẬN

Bài nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp docking phân tử nhằm đánh giá khả năng ức chế của 50 hợp chất alkaloid với đích phân tử EGFR. Kết quả thu được 3 hợp chất có khả năng ức chế protein đích cao với các đặc tính khả quan nhất: Năng lượng liên kết thấp hơn chất đối chứng dương (Gefitinib), đáp ứng các đặc tính của thuốc sử dụng đường uống, dự đoán khả năng hấp thu và phân bố tốt, ít độc tính; đó là: Berberin chlorid, Tetrahydroberberine và Coptisine chloride.

Berberine (BBR) là một alkaloid bậc bốn isoquinoline được phân lập từ nhiều loại cây thuốc như *Hydrastis canadensis*, *Berberis aristata*, *Coptis chinensis*, *Coptis japonica*, *Phellodendron amurense* và *Phellodendron chinense* Schneid. BBR có tác dụng chống oxy hóa và nhiều đặc tính dược lý khác. BBR đã được chứng minh có hiệu quả chống viêm dạ dày ruột, tiêu chảy, tăng lipid máu, béo phì, gan nhiễm mỡ, bệnh động mạch vành, tăng huyết áp, tiểu đường, hội chứng chuyển hóa, buồng trứng đa nang và bệnh Alzheimer [7]. Gần đây, các nghiên cứu *in vitro* đã chỉ ra BBR ức chế sự tăng sinh và di cư của tế bào ung thư, đồng thời gây ra quá trình chết theo chương trình trong nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau. Theo nghiên cứu của Chen Jian và CS, Berberine chloride (BBC) gây ra sự phá vỡ chuỗi kép DNA (DSB) thông qua việc điều chỉnh giảm mức TOP2B, dẫn đến quá trình chết theo chương trình trong các tế bào NSCLC [8]. Vì vậy, đây là hợp chất tiềm năng trong phát triển thuốc. Tuy nhiên, hợp chất này có độc tính trên gan và tim nên cần tiến hành các nghiên cứu sâu hơn để khắc phục hạn chế này và phát triển thành thuốc trong điều trị ung thư phổi.

Tetrahydroberberine (THBER) là một isoquinoline alkaloid có ở một số loài thực vật. Trái ngược với berberine, THBER đã được chứng minh là có rất ít độc tính tế bào và có thể tác động lên hệ thần kinh trung ương như một chất ức chế, có tác dụng bảo vệ gan, được sử dụng để bảo vệ chống lại tổn thương do thiếu máu cục bộ - tái tưới máu não và cho thấy hoạt động chống loạn nhịp tim, oxy hóa hiệu quả [9]. Tuy nhiên, các nghiên cứu độc tính cho thấy THBER ở liều 40 mg/kg sử dụng đường uống làm tăng aspartate transaminase trong huyết thanh chuột và tổng lượng bilirubin, cũng như nồng độ malondialdehyd trong gan và gây phù gan. Điều này phù hợp với kết quả dự đoán ADMET của chúng tôi. Điểm số docking của Tetrahydroberberin là -9,4 kCal/mol cho thấy hợp chất này có khả năng ức chế mạnh protein EGFR. Hợp chất này có khả năng thấm qua màng CaCO₂ và thấm qua ruột tốt, khả năng thải trừ qua thận tốt. Hiện nay, các nghiên cứu về tác dụng của THBER trên bệnh ung thư phổi vẫn còn hạn chế. Vì vậy, cần đẩy mạnh nghiên cứu tác dụng trong điều trị ung thư của hợp chất này. Đồng thời, dự đoán về độc tính cũng cần được nghiên cứu sâu hơn để có kết quả đánh giá chính xác.

Coptisine là hợp chất có hoạt tính chính được tìm thấy trong thân rễ *Coptis* cho thấy tác dụng chống sốt rét đối với các chủng nhạy cảm với chloroquine (3D7) và kháng thuốc (Dd2) trong ống nghiệm cũng như mô hình sốt rét trên chuột *in vivo* [10]. Bên cạnh đó, Rao và CS đã báo cáo rằng coptisine (COP) có thể gây ra quá trình chết theo chương trình của các tế bào A549 trong NSCLC bằng cách tăng các loại phản ứng oxy hóa (ROS), phá vỡ màng ty thể và điều chỉnh sự tăng trưởng protein Bcl-2 và Bax. Kết quả docking cho thấy Coptisine chloride có khả năng tương tác tốt với protein EGFR với điểm số docking là -10,2 kCal/mol. Hợp chất này có khả năng thấm qua màng CaCO₂ và hấp thu tốt qua ruột, có khả năng thấm qua hàng rào máu não tốt. Đồng thời, Coptisine chloride cho thấy khả năng thải trừ tốt qua thận và không có độc tính trên gan.

Tuy nhiên, quá trình sàng lọc ảo sử dụng phương pháp docking phân tử chỉ mang tính chất dự đoán tiềm năng và đặc tính của các hợp chất dựa trên các phần mềm được tiến hành trên máy tính. Vì vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn trên thực nghiệm để có những kết luận chính xác và đầy đủ về tiềm năng trở thành thuốc trong điều trị ung thư phổi của các hợp chất này.

Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp docking phân tử. Đây là kỹ thuật sàng lọc ảo phổ biến hiện nay với khả năng có thể sàng lọc được lượng lớn cơ sở dữ liệu các hợp chất, được thực hiện trên máy tính thông qua các phần mềm sàng lọc, dự đoán và phân tích các đặc tính của phối tử. Kết quả của quá trình docking cho biết năng lượng liên kết và tương tác giữa phối tử-protein thông qua liên kết với các acid amin tại trung tâm hoạt động giúp chúng ta dự đoán hoạt tính ức chế protein của phân tử hợp chất. Từ đó, chọn lọc được các hợp chất tiềm năng để tiếp tục tiến hành các đánh giá tiếp theo.

Tuy nhiên, phương pháp docking trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng nhiều phần mềm đánh giá khác nhau. Điều này có thể làm ảnh hưởng đến kết quả do sự khác nhau giữa các phần mềm. Ngoài ra, việc xác định chính xác cấu trúc 3D của protein đích, sự khác biệt giữa mô hình và thực tế trong cơ thể người cũng là lý do khiến phương pháp sàng lọc ảo gặp nhiều khó khăn. Vì vậy, việc phối hợp các kỹ thuật *in vitro*, *in vivo* rất cần thiết trong quá trình nghiên cứu và phát triển thuốc.

KẾT LUẬN

Berberin chlorid, Tetrahydroberberine và Coptisine chloride là các hợp chất tiềm năng ức chế thụ thể EGFR

(6DUK) với năng lượng lần lượt là -8,9; -9,4 và -10,2 kCal/mol. Các hợp chất này được đánh giá có đặc tính giống thuốc và đặc điểm dược động học khả quan như: Khả năng thấm tốt qua màng, hấp thu tốt, thải trừ qua thận, không có khả năng gây độc trên tim và kích ứng da. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu sâu hơn trên mô hình *in vivo* và *in vitro* như: Chiết xuất cao toàn phần hoặc phân đoạn cao chiết, phân tách các hợp chất, thử nghiệm trên động vật, trên cơ thể người để đánh giá và phát triển những hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị ung thư phổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021; 71(3):209-249.
2. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures*. 2023.
3. Wang Zhixiang. ErbB receptor signaling: Methods and protocols. *ErbB Receptors and Cancer*. 2017:3-35.
4. Ciardiello F and G Tortora. EGFR antagonists in cancer treatment. *New England Journal of Medicine*. 2008; 358(11):1160-1174.

5. Rajput A, R Sharma and R Bharti. Pharmacological activities and toxicities of alkaloids on human health. *Materials Today: Proceedings*. 2022; 48:1407-1415.
6. Sindhoor S, et al. A spotlight on alkaloid nanoformulations for the treatment of lung cancer. *Frontiers in Oncology*. 2022; 12.
7. Behl T, et al. Expatriating the pharmacological and nanotechnological aspects of the alkaloidal drug berberine: Current and future trends. *Molecules*. 2022; 27(12):3705.
8. Chen J, et al. Berberine chloride suppresses non-small cell lung cancer by deregulating Sin3A/TOP2B pathway in vitro and in vivo. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2020; 86:151-161.
9. Yu-Bin Ji. Research progress on pharmacological effects of tetrahydroberberine. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2017:5270-5275.
10. Teklemichael AA, et al. Anti-malarial activity of traditional Kampo medicine Coptis rhizome extract and its major active compounds. *Malaria Journal*. 2020; 19(1):1-10.