

MÔ HÌNH PHARMACOPHORE CÁC CHẤT CHỦ VẬN VÀ
DOCKING TRÊN THỤ THỂ DOPAMIN D2

Bùi Quốc Dũng^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng mô hình pharmacophore từ các chất chủ vận và so sánh với mô hình từ các chất đối vận và phức hợp thụ thể dopamine D2 (D2R) - risperidon. Xây dựng mô hình docking trên D2R bằng cấu trúc tinh thể 6CM4. **Phương pháp nghiên cứu:** Mô hình pharmacophore được xây dựng bằng phần mềm LigandScout. Tập xây dựng gồm 6 thuốc chủ vận (dopamine, pramipexole, rotigotine, apomorphine, ropinivone, bromocriptine) và 11 thuốc đối vận. Tập đánh giá gồm 147 chất có hoạt tính, 108 chất không có hoạt tính, 400 chất mới. Từng mô hình được đánh giá qua độ đúng, độ đặc hiệu, độ nhạy, hiệu suất hoạt tính, điểm số GH và hệ số làm giàu EF. Mô hình docking xây dựng dựa trên 6CM4 trải qua các bước: Chuẩn bị phức hợp bằng MOE, chuẩn bị phối tử với phần mềm Sybyl và Chemdraw, thực hiện docking với phần mềm LeadIT. Sau đó, mô hình được đánh giá qua căn bậc hai trung bình bình phương độ lệch (RMSD) và mô thức gắn kết. **Kết quả:** Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình pharmacophore các chất chủ vận D2R gồm 1 điểm ion dương, 1 vòng thơm, 1 điểm kỵ nước, 1 điểm cho hydro. Mô hình docking được tạo ra thoả mãn yêu cầu với điểm số docking tại khoảng -31 kJ/mol, RMSD từ 0,86 - 1,18 Å. Khoang gắn kết có chứa các acid amin quan trọng đối với chất đối vận như Asp114, Trp386, Trp100, cũng như tương tác với chất chủ vận như Asp114, Ser197. **Kết luận:** Mô hình pharmacophore đi từ các chất chủ vận và mô hình docking thoả mãn các yêu cầu, tương đồng với những nghiên cứu khác trên thế giới, có thể ứng dụng trong sàng lọc ảo.

Từ khoá: Chất chủ vận; D2R; 6CM4; Docking; Pharmacophore.

¹Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

*Tác giả liên hệ: Bùi Quốc Dũng (bquodung@bmtvietnam.com)

Ngày nhận bài: 06/10/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 05/12/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.546>

A PHARMACOPHORE MODEL BASED ON AGONISTS AND MOLECULAR DOCKING ON DOPAMINE D2 RECEPTOR

Abstract

Objectives: To build a pharmacophore model from agonists and compare it with those from antagonists and the dopamine D2 receptor (D2R) - risperidone complex. To build a molecular docking model on the D2 dopamine receptor using the 6CM4 crystal structure. **Methods:** The pharmacophore model was built using LigandScout software. The training set included 6 agonists (dopamine, pramipexole, rotigotine, apomorphine, ropininole, and bromocriptine) and 11 antagonists. The test set included 147 active substances, 108 inactive substances, and 400 decoy substances. Each model was evaluated for the accuracy, specificity, sensitivity, yield of actives, Goodness of Hit-list (GH) score, and enrichment factor (EF). The docking model was built based on 6CM4, following steps: Preparing the complex with MOE, preparing the ligands with Sybyl and Chemdraw software, and performing docking with LeadIT software. The model was then assessed through the root-mean-square deviation (RMSD) and binding mode. **Results:** The study has built a pharmacophore model for D2R agonists, including a positive ionisable feature, a hydrophobic feature, an aromatic ring, and a hydrogen-bond donor. The generated docking model meets the requirements with a docking score of about -31 kJ/mol and RMSD ranging from 0.86 to 1.18 Å. The binding cavity contained amino acids, which were important for antagonists such as Asp114, Trp386, and Trp100, as well as interactions with agonists such as Asp114 and Ser197. **Conclusion:** The pharmacophore and docking model that meet the requirements, similar to other studies worldwide, can be applied in virtual screening.

Keywords: Agonists, D2R; 6CM4; Docking; Pharmacophore.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Dopamine là chất dẫn truyền thần kinh catecholamine nổi bật trong não động vật có vú, kiểm soát một loạt các chức năng bao gồm hoạt động vận động,

nhận thức, cảm xúc, củng cố tích cực và điều hòa nội tiết. Hệ thống dopaminergic là trọng tâm của nhiều nghiên cứu trong những năm qua, chủ yếu là do một số tình trạng bệnh lý như

bệnh Parkinson, tâm thần phân liệt, hội chứng Tourette và tăng prolactin máu có liên quan đến rối loạn điều hòa đường truyền dopaminergic [1]. Có sự giảm đáng kể các thụ thể giống dopamine D2 trong vùng hồi hải mã và vỏ não trước của bệnh nhân bị bệnh Alzheimer, mật độ thụ thể giảm dần theo tuổi tác. Hơn nữa, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng hoạt động thông qua các thụ thể giống dopamine D2 làm tăng kích thích vỏ não, trong khi thông qua các thụ thể giống dopamine D1 tăng giải phóng acetylcholin [2]. Trong suốt những thập kỷ qua, 65 loại thuốc nhắm vào họ thụ thể dopamine (DR) đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt. Tất cả các phân nhóm dopamine đều quan trọng, đặc biệt D2R đã được chứng minh là có liên quan đến tất cả các bệnh lý được liệt kê ở trên. Trong số 65 loại thuốc được FDA phê chuẩn, 60 loại cũng nhắm mục tiêu D2R. Không có loại thuốc nào trong số 60 loại thuốc được FDA phê duyệt thực sự có tính chọn lọc đối với D2R nhưng cũng có liên quan đến các thành viên khác trong họ DR [3]. Các nghiên cứu docking trước khi xuất hiện cấu trúc tinh thể có chứa D2R (2018) đều chỉ tập trung vào mô hình homology.

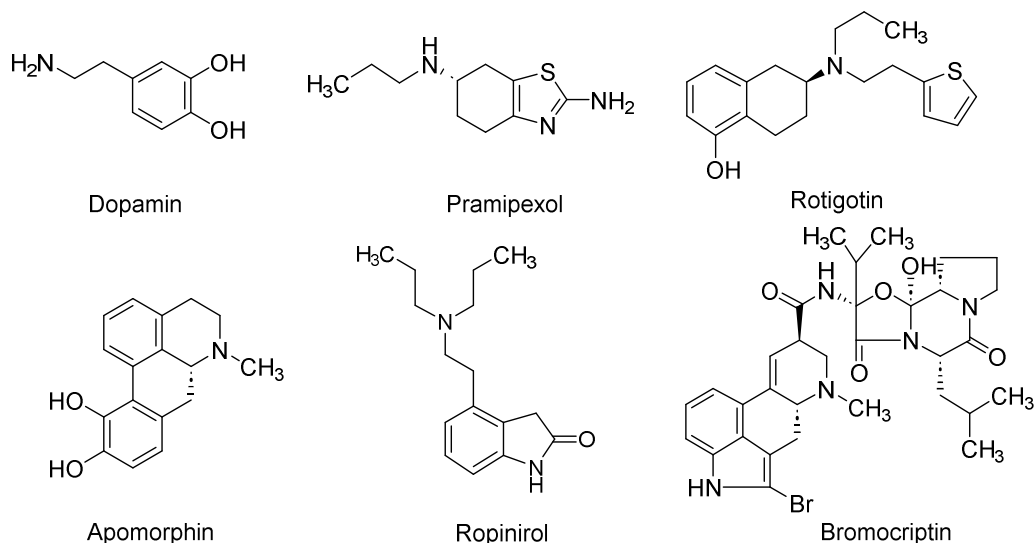
Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *Xây dựng mô hình docking trên cấu trúc tinh thể mới xuất hiện gần đây và mô hình Pharmacophore các chất chủ vận D2R*. Từ đó, các mô hình này có thể được sử dụng để sàng lọc các chất chủ vận dopamine D2 và kiểm tra lại qua thực nghiệm để phát triển thành các thuốc tiềm năng sau này.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Tập hợp chất:*

6 thuốc chủ vận D2R đã được đưa ra thị trường với cấu trúc được trình bày như trong hình 1; 11 thuốc có hoạt tính đối vận bao gồm benperidol, perphenazine, sertindole, lurasidone, bromperidol, paliperidone, fluphenazine, iloperidone, risperidone, acetophenazine, quetiapine được sử dụng để xây dựng mô hình pharmacophore. 255 chất từ 36 tài liệu được sưu tầm, chọn lọc và phân loại hoạt tính dựa vào chất đối chiếu là dopamine, tổng kết có 147 chất có hoạt tính, 108 chất không có hoạt tính [4]. 400 chất mỗi có cấu trúc hóa lý giống với 6 thuốc chủ vận trên nhưng không có hoạt tính tạo ra từ cơ sở dữ liệu chất mỗi có ích (DUD-E).



Hình 1. Các thuốc chủ vận D2R.

** Thụ thể dopamine:*

Trên ngân hàng cơ sở dữ liệu protein (RCSB PDB), cấu trúc 6CM4 là cấu trúc thích hợp để nghiên cứu vì có độ phân giải hợp lý 2,87 Å so với 6VMS (3,8 Å), 6LUQ (3,10 Å), 7DFP (3,1 Å) và độ dài tinh thể (35-222, 363-443) lớn hơn 5AER (430-443).

2. Phương pháp nghiên cứu

** Phần mềm:*

Các phần mềm sử dụng bao gồm: MOE 2019.102 (hãng Chemical Computing Group), LigandScout 4.3.3 (hãng Intel: Ligand GmbH), LeadIT 2.1.8 (hãng BioSolveIT GmbH), ChemDraw 18.1 (hãng PerkinElmer), Sybyl 2.0.0.11273 (hãng Tripos - cetera).

** Mô hình Pharmacophore:*

Dựa vào các tập chất và cấu trúc 6CM4, 3 mô hình được tạo ra. Mô hình từ phối tử chủ vận được xây dựng từ 6 thuốc chủ vận. Mô hình đi từ phức hợp được xây dựng từ cấu trúc tinh thể 6CM4 chứa D2R và phối tử đối vận risperidone. Mô hình phối tử đối vận từ 11 thuốc có hoạt tính đối vận. Các mô hình Pharmacophore được xây dựng dựa vào phần mềm LigandScout.

Sau đó, các mô hình này cần được tiến hành đánh giá để làm cơ sở cho việc lựa chọn mô hình phù hợp nhất có khả năng dự đoán tốt nhất trên tập hoạt tính và tập không hoạt tính từ tập đánh giá 255 chất [4]. Ngoài ra, tập đánh giá còn bổ sung thêm 400 chất mới từ cơ sở dữ liệu chất mới có ích (DUD-E). Việc đánh giá sẽ tập trung những thông số được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Các thông số đánh giá của mô hình Pharmacophore [5].

Thông số	Cách tính
Độ nhạy	$Se = \frac{TP}{TP + FN}$
Độ đặc hiệu	$Sp = \frac{TN}{TN + FP}$
Hiệu suất hoạt tính	$Y_a = \frac{TP}{TP + FP}$
Độ đúng	$Acc = \frac{TP + TN}{TP + FP + FN + TN}$
Điểm GH	$GII = \left(\frac{3}{4} Y_a + \frac{1}{4} Se \right) \cdot Sp$
Hệ số làm giàu EF	$EF = Y_a \cdot \frac{TP + FN}{TP + FP + TN + FN}$

** Ghi chú:*

TP: Chất có hoạt tính và thỏa mãn mô hình pharmacophore.

FN: Chất có hoạt tính và không thỏa mãn mô hình pharmacophore.

FP: Chất không hoạt tính và thỏa mãn mô hình pharmacophore.

TN: Chất không hoạt tính và không thỏa mãn mô hình pharmacophore.

Se: Độ nhạy, số đo tỷ lệ các hợp chất thực sự có hoạt tính được chọn trong quá trình sàng lọc.

Sp: Độ đặc hiệu, số đo tỷ lệ các chất thực sự không hoạt tính bị loại bỏ chính xác trong sàng lọc.

Acc: Độ đúng, mô tả tỷ lệ phần trăm của các phân tử được phân loại chính xác bởi quy trình sàng lọc.

Ya: Hiệu suất hoạt tính, biểu thị mối liên quan giữa số chất có hoạt tính thực sự và tổng số hit.

GH: Điểm kết hợp độ nhạy, độ đặc hiệu và hiệu suất hoạt tính; GH: số đo hữu ích để đánh giá phân biệt các mô hình, vì xem xét cả tỷ lệ chất có hoạt tính thực sự và tỷ lệ chất không hoạt tính thực sự.

EF: Số lượng hợp chất hoạt tính được tìm thấy bằng cách sử dụng mô hình pharmacophore so với số lượng chất có hoạt tính tìm thấy theo giả

thuyết nếu các hợp chất được sàng lọc ngẫu nhiên [5].

Thông thường, mô hình pharmacophore được đánh giá là khá tốt khi có $0,6 < GH < 1$ và $EF > 1$.

** Mô hình docking:*

Chuẩn bị phức hợp: Quá trình được tiến hành trong phần mềm MOE. Đầu tiên, phức hợp cần xóa đi các phân tử nước, các phối tử không liên quan thông qua Sequence Editor. Sử dụng công cụ QuickPrep để chuẩn bị cấu trúc 3D protein và proton hóa. Chuẩn bị phối tử: Tiến hành trong Sybyl. Bước 1: Tối thiểu hóa năng lượng lần 1, chọn Compute/Minimize/Molecule. Bước 2: Tiến hành chạy động học phân tử bằng công cụ Compute/Dynamics/Setup Simulated Annealing. Bước 3: Thực hiện lại bước 1. Tiến hành docking: Quá trình được tiến hành trong LeadIT. Chuẩn bị túi gắn kết bằng công cụ Prepare receptor. Chọn phối tử để docking bằng công cụ Docking/Choose Docking Library. Xác định các thông số cho quá trình docking bằng công cụ Docking/Define FlexX Docking.

Đánh giá mô hình được thực hiện như sau: Chuẩn bị 4 phối tử ở dạng file *.sdf. Phối tử 1 (PT1): Phối tử risperidon được tách ra từ 6CM4. Phối tử 2 (PT2): Phối tử risperidon được tách ra từ 6CM4 và được chuẩn bị như

quy trình chuẩn bị phối tử như trên. Phối tử 3 (PT3): Phối tử risperidon được vẽ bằng phần mềm Chemdraw và được chuẩn bị như quy trình chuẩn bị phối tử như trên. Phối tử 4 (PT4): Phối tử dopamine được vẽ bằng phần mềm Chemdraw và được chuẩn bị như quy trình như trên.

Tác giả Mansour thực hiện đột biến chọn lọc Asp114, Ser194 và Ser197 của D2R. Việc loại bỏ điện tích âm với sự đột biến của Asp114 thành asparagine hoặc glycine dẫn đến mất hoàn toàn cả liên kết chủ vận và đối kháng. Đặc biệt, Ser197 quan trọng hơn Ser194 đối với liên kết chủ vận [6]. Dữ liệu thay đổi ái lực của phối tử risperidone với các acid amin bị đột biến alanine trong túi gắn kết cho thấy các acid amin quan trọng đối với sự gắn kết đối vận gồm Asp114, Trp386, Phe389, Tyr416, Thr119, Thr412, Trp100, Phe382, Val111, Phe390 [7]. Sự thành công của việc docking được đo bằng căn bậc hai trung bình bình phương độ lệch (RMSD) giữa các vị trí nguyên tử nặng được quan sát thực nghiệm của phối tử và những vị trí được chương trình dự đoán. Các cấu dạng có $RMSD < 2 \text{ \AA}$ được coi là thành công và việc docking có $RMSD$ nằm trong khoảng từ 2 - 3 \AA được coi là thành công một phần [8]. Ngoài ra, mô thức gắn kết cần có các acid amin quan trọng đối với chất đối vận như đã trình bày.

3. Đạo đức nghiên cứu

Tác giả chính của nghiên cứu này là người chịu trách nhiệm về nội dung bản thảo. Số liệu phân tích trong bài là trung thực. Bản thảo đăng nguyên vẹn lần đầu và chưa từng được đăng ở bất kỳ tạp chí hoặc cơ sở dữ liệu có thể tiếp cận công khai

nào. Tác giả cam kết không có xung đột về lợi ích với các cá nhân hay tổ chức khác; Tạp chí Y Dược học Quân sự có toàn quyền sử dụng công trình này (nếu được chấp nhận đăng) để quảng bá tới bạn đọc bằng các hình thức khác nhau (bản in giấy và bản điện tử).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Mô hình Pharmacophore

* *Mô hình Pharmacophore phối tử chủ vận:*

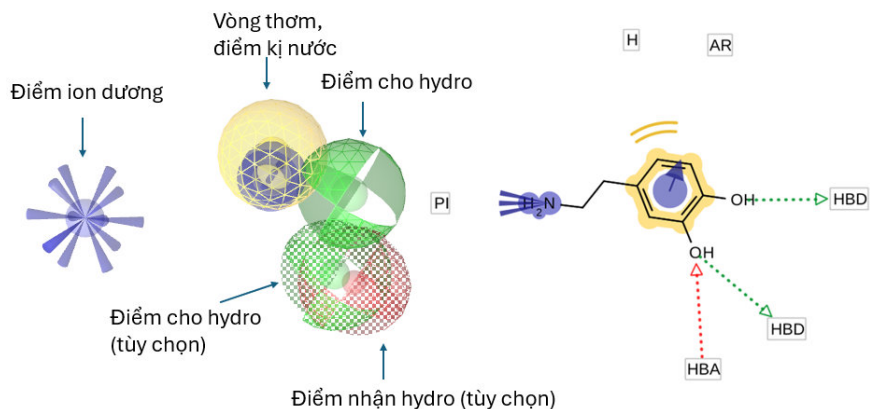
Kết quả thu được 200 mô hình, trong đó có nhiều mô hình có đánh giá giống nhau, 4 mô hình có kết quả tốt nhất được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Thông số đánh giá của 4 mô hình Pharmacophore đi từ chất chủ vận.

Mô hình	TP	FN	TN	FP	Sp	Se	ACC	Ya	GH	EF
5	142	5	305	203	0,60	0,97	0,68	0,41	0,33	1,83
28	111	36	458	50	0,90	0,76	0,87	0,69	0,64	3,07
145	63	84	450	58	0,89	0,43	0,78	0,52	0,44	2,32
151	65	82	448	60	0,88	0,44	0,78	0,52	0,44	2,32

Các mô hình đều có hệ số làm giàu EF > 1. Với độ nhạy Se, mô hình 5 có độ nhạy cao nhất vượt trội là 0,97 trong khi mô hình 28 chỉ có 0,76. Về độ đặc hiệu Sp, mô hình số 28 đứng đầu với 0,9, theo sau là mô hình 145 và 151, và đứng cuối là mô hình 5 với 0,6. Nếu xem xét độ đúng ACC, mô hình số 28 cho độ đúng cao nhất là 0,87. Mô hình số 28 có hiệu suất hoạt tính Ya cao hơn các mô hình khác là 0,69, trong khi mô hình số 5 xếp cuối với

0,41. Như vậy, mô hình số 28 có độ đặc hiệu, độ đúng, hiệu suất hoạt tính cao nhất, trong khi độ nhạy lại hơi thấp. Mô hình số 5 thì ngược lại, tuy nhiên độ nhạy cao nổi trội. Để đánh giá một mô hình tốt hay không, nếu chỉ đánh giá trên từng điểm số như vậy thì khó kết luận, cần có một con số kết hợp với trọng số hợp lý. Điểm số GH sẽ quyết định mô hình nào được sử dụng nên mô hình số 28 được chọn còn mô hình 5 bị loại vì điểm GH nhỏ nhất.

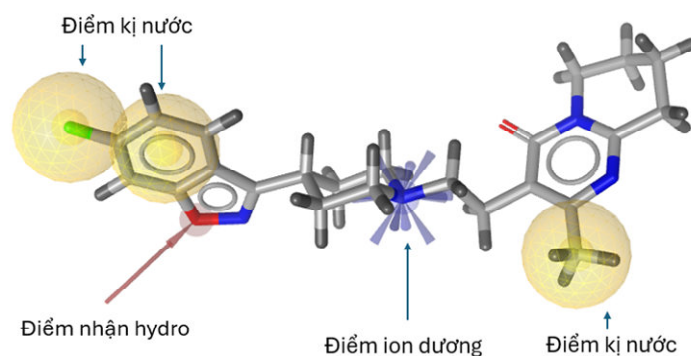


Hình 2. Mô hình Pharmacophore 28 đi từ các chất chủ vận (bên trái) thể hiện lên phân tử dopamine (bên phải).

Mô hình Pharmacophore 28 được minh họa trong hình 2 gồm có 1 điểm ion dương, 1 vòng thơm, 1 điểm kỵ nước, 1 điểm cho hydro có ở tất cả các chất trong tập xây dựng. Ngoài ra, một điểm nhận hydro và điểm cho hydro khác có thể có hoặc không ở chất này và chất kia. Cụ thể, 5 chất trong tập xây dựng bromocriptine, apomorphine, ropinirole, dopamine, rotigotine đều có điểm cho hydro tùy chọn, ngoại trừ pramipexole. Apomorphine, ropinirole, dopamine, rotigotine đều có điểm nhận hydro tùy chọn, ngoại trừ bromocriptine và pramipexole.

** Mô hình Pharmacophore phức hợp với phối tử đối vận:*

Cấu trúc tinh thể 6CM4 chứa D2R và phối tử đối vận risperidon. Do đó, cấu trúc này được sử dụng để xây dựng mô hình Pharmacophore. Mô hình Pharmacophore gồm có 1 điểm ion dương, 3 điểm kỵ nước, và 1 điểm nhận hydro minh họa như hình 3.



Hình 3. Mô hình Pharmacophore đi từ phức hợp 6CM4.

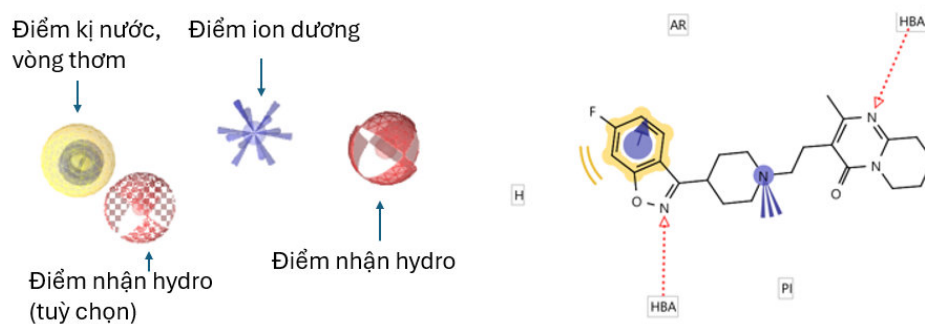
* Mô hình Pharmacophore phối tử đối vận:

Bảng 3. Thông số đánh giá của 4 mô hình Pharmacophore đi từ chất đối vận.

Mô hình	TP	FN	TN	FP	Sp	Se	ACC	Ya	GH	EF
7	28	119	483	25	0,95	0,19	0,78	0,53	0,42	2,35
11	68	79	454	54	0,89	0,46	0,80	0,56	0,48	2,48
26	28	119	484	24	0,95	0,19	0,78	0,54	0,43	2,40
94	115	32	342	166	0,67	0,78	0,70	0,41	0,34	1,82

Bốn mô hình có kết quả đánh giá cao nhất được tổng hợp trong bảng 3 về độ đặc hiệu, các mô hình 7, 26 đứng đầu với 0,95. Với độ nhạy, mô hình 94 vượt trội là 0,78. Nếu xem xét độ đúng, mô hình số 11 cho độ đúng cao nhất là 0,80. Tiếp theo, mô hình số 11 có hiệu suất hoạt tính cao hơn các mô hình khác là 0,56. Điểm số GH sẽ quyết định mô hình nào được sử dụng nên mô hình số 11 được chọn làm đại diện với điểm số GH là 0,48; hệ số làm giàu 2,48.

Mô hình 11 được minh họa trong hình 4 gồm 1 điểm ion dương, 1 điểm kỵ nước, 1 vòng thơm, 1 điểm nhận hydro và tùy chọn không bắt buộc là 1 điểm nhận hydro khác.



Hình 4. Mô hình Pharmacophore 11 của các chất đối vận (bên trái) thể hiện lên phân tử risperidon (bên phải).

* Đánh giá các mô hình Pharmacophore:

Những mô hình tốt nhất ở trên được liệt kê trong bảng 4. Khi so sánh giữa các mô hình, mô hình 3D Pharmacophore đi từ các chất chủ vận có kết quả tốt nhất, điểm GH là 0,64 và hệ số làm giàu 3,07 cao hơn hai mô hình kia. Ngoài ra, mô hình đối vận và chủ vận được đánh giá qua chính các tập xây dựng từ 6 thuốc chủ

vận và 11 thuốc đối vận thì đều đạt điểm đánh giá tuyệt đối. Cụ thể, đối với mô hình 3D Pharmacophore đi từ thuốc chủ vận, 6 thuốc chủ vận đều đáp ứng được 3D Pharmacophore và 11 thuốc đối vận đều không sàng lọc qua 3D Pharmacophore. Với mô hình 3D Pharmacophore đi từ thuốc đối vận, 11 thuốc đối vận đều đáp ứng được 3D Pharmacophore và 6 thuốc chủ vận đều không sàng lọc qua 3D Pharmacophore.

Bảng 4. Tóm lược thông số đánh giá các mô hình Pharmacophore.

Mô hình	TP	FN	TN	FP	Sp	Se	ACC	Ya	GH	EF
Phức hợp đối vận	17	130	467	41	0,92	0,12	0,74	0,29	0,23	1,31
Đối vận	68	79	454	54	0,89	0,46	0,80	0,56	0,48	2,48
Chủ vận	111	36	458	50	0,90	0,76	0,87	0,69	0,64	3,07

2. Mô hình docking

Kết quả redocking được trình bày ở bảng 5. Kết quả RMSD của các phối tử đều nhỏ hơn 2 Å, đạt yêu cầu. Về điểm số docking, giá trị trung bình là -31,33 kJ/mol, độ lệch chuẩn 0,58, độ lệch chuẩn tương đối RSD 1,83%. Như vậy, điểm số docking có sự thay đổi ít và RMSD bé hơn 2 Å. Mô thức gắn kết của 3 cấu dạng risperidone nói trên và dopamine đều có những acid amin quan trọng trong liên kết với D2R. Liên kết giữa phối tử với Asp114 xuất hiện ở cả phối tử chủ vận lẫn đối vận. Ngoài ra, với phối tử là dopamine thì thấy xuất hiện liên kết với Ser197.

Bảng 5. Kết quả redocking risperidone và docking dopamine.

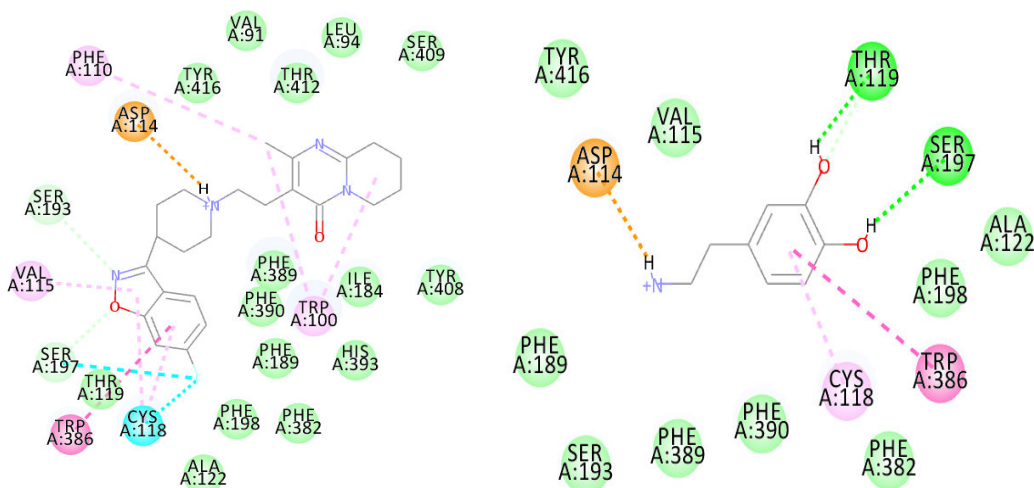
Phối tử	Điểm số docking (kJ/mol)	RMSD (Å)	Acid amin quan trọng trong mô thức gắn kết
1	-31,58	1,18	Asp114 (lk cầu muối), Trp100 (lk π -alkyl), Trp386 (lk π - π T)
2	-30,67	1,08	Tương tự PT1 và bổ sung thêm Phe389 (lk Van der Waals), Phe390 (lk π - π T)
3	-31,74	0,86	Tương tự PT1 và bổ sung thêm Phe389 (lk Van der Waals)
4	-18,15	-	Asp114 (lk cầu muối), Ser197 (lk hydro)

(* lk: liên kết)

Khoang gắn kết tự tạo ra từ phần mềm LeadIT bao gồm 33 acid amin như sau: Val87, Trp90, Val91, Leu94, Trp100, Phe110, Val111, Asp114, Val115, Met116, Cys118, Thr119, Ala120, Ser121, Ala122, Leu123, Ile184, Phe189, Ser193, Ser194, Ser197, Phe198, Pro201, Phe382, Trp386, Phe389, Phe390, His393, Pro405, Tyr408, Ser409, Thr412, Tyr416. Khoang gắn kết của 6CM4 có đầy đủ các acid amin quan trọng trong liên kết với chất đối vận như Asp114, Trp386, Phe389, Tyr416, Thr119, Thr412, Trp100, Phe382, Val111, Phe390.

Mô thức gắn kết của PT1 (Hình 5) có tương tác với các acid amin sau: Asp114, Phe110, Trp100, Cys118, Trp386, Ser197, Val115, Ser193 trong đó có những acid amin quan trọng trong liên kết với chất đối vận là Asp114, Trp100, Trp386. Tương tự

như vậy, đối với PT2 là các acid amin Asp114, Phe110, Trp100, Tyr408, Phe389, Val115, Ser197, Cys118, Trp386, Phe390, Ala112; trong đó, có những acid amin liên kết với chất đối vận là Asp114, Trp386, Trp100, Phe389, Phe390. Các acid amin không thể thiếu trong liên kết với chất đối vận ở PT3 là Asp114, Trp386, Phe389, Trp100. Các acid amin khác xuất hiện trong liên kết với PT3 bao gồm Phe110, Tyr408, Val115, Cys118, Ser197, Ala112. Ngoài ra, khi ta xem xét với phối tử là dopamine PT4, không phải là chất đối vận như risperidone, để kiểm tra xem có các liên kết quan trọng giữa thụ thể với chất chủ vận hay không thì thấy xuất hiện liên kết với acid amin quan trọng Ser197 và Asp114 bên cạnh liên kết hydro với Thr119, liên kết $\pi-\pi$ T với Trp 386, liên kết π -alkyl với Cys118.



Hình 5. Các acid amin tương tác với risperidone PT1 và dopamine PT4.

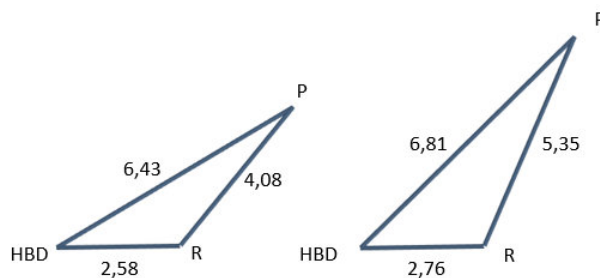
BÀN LUẬN

1. Mô hình Pharmacophore

Nghiên cứu đã xây dựng mô hình Pharmacophore trên 6 chất chủ vận. Mô hình đi từ các chất chủ vận gồm điểm ion dương, vòng thơm, điểm kỵ nước, điểm cho hydro. Cả 3 mô hình đều có chung điểm ion dương, điểm kỵ nước. Mô hình phức hợp với risperidone và mô hình phối tử đối vận đều có điểm nhận hydro. Hơn nữa, nghiên cứu cũng chỉ ra cần cần trọng khi sử dụng pharmacophore để phân biệt các chất chủ vận và đối vận (liên quan điểm cho và nhận hydro). Chẳng hạn như, mô hình Pharmacophore các chất đối vận sử dụng để sàng lọc thì vẫn có những chất chủ vận thoả mãn. Do đó, quá trình sàng lọc các chất chủ vận nên kết hợp với các mô hình khác nữa để tăng tính chọn lọc.

Ngoài ra, khi so sánh kết quả nghiên cứu này với những nghiên cứu khác về mô hình pharmacophore dựa trên các chất chủ vận, có nhiều điểm tương đồng như đều có điểm ion dương (P), vòng thơm (R), điểm cho hydro (HBD). Hình 6 chỉ ra tam giác

pharmacophore của nghiên cứu này và của Sommer T khá giống nhau, chỉ khác một ít về độ dài cạnh (đơn vị đo Å). Sommer T xây dựng mô hình dựa trên 11 chất gồm apomorphine, talipexole, ADTN và 8 chất nữa với cấu trúc công kênh, kéo dài bằng phần mềm Discovery Studio 3.1. Chỉ 1 chất apomorphine xuất hiện trong tập 6 chất chủ vận của nghiên cứu này [9]. Một cách tương tự, tác giả Zell L và CS cũng chỉ ra mô hình tối ưu M3 gồm có điểm ion dương, điểm cho và nhận hydro, vòng thơm và điểm kỵ nước. Mô hình này được xây dựng từ 3 chất: 8-hydroxy-5-(4-(4-((2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-7-yl)oxy)butyl)-1,4-diazepan-1-yl)quinolin-2(1H)-on; apomorphine; naxagolid với phần mềm LigandScout. Các thông số đánh giá gồm có độ đặc hiệu Sp 1,00; độ nhạy Se 0,38; độ đúng 0,99; điểm số GH 0,65; hiệu suất hoạt tính Ya 0,74; hệ số làm giàu EF 41,29 [3]. Phần lớn các thông số đánh giá đều cao hơn nghiên cứu này, ngoại trừ độ nhạy thấp hơn. Điểm GH của mô hình nghiên cứu này gần bằng mô hình M3 của tác giả Zell L.



Hình 6. Mô hình pharmacophore nghiên cứu này (trái) và Thomas Sommer (phải).

2. Mô hình docking

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình docking dựa trên cấu trúc tinh thể 6CM4 của D2R. Giá trị RMSD của PT1 khác 0 cho thấy vẫn có sự thay đổi cấu dạng so với phối tử đối chiếu khi thực hiện docking. Sự thay đổi này vẫn nằm trong giới hạn cho phép cho thấy bước chuẩn bị khoang gắn kết không bị sai và không ảnh hưởng quá lớn tới kết quả. Giá trị RMSD của PT2 nhỏ hơn PT1 cho thấy quy trình tối thiểu hoá năng lượng phối tử 2 lần kết hợp chạy động học cho kết quả tốt hơn khi không thực hiện quy trình này ở PT1. Giá trị RMSD của PT3 nhỏ nhất cho thấy việc chuyển từ dạng 2D sang dạng 3D và tối thiểu hoá năng lượng của risperidone cho kết quả tốt nhất trong 3 PT. Cấu dạng của PT3 có vị trí gần với cấu dạng của phối tử đối chiếu từ thực nghiệm. 6CM4 là một cấu trúc tinh thể có độ phân giải tốt, tuy nhiên lại gắn kết với risperidon là một chất đối vận

D2R. Do đó, mô thức gắn kết của PT4 được xem xét, chất chủ vận nội sinh dopamine có gắn kết với acid amin quan trọng như Asp114, Ser197. Như vậy, quy trình chuẩn bị khoang gắn kết của thụ thể và quy trình chuẩn bị phối tử này đáp ứng được yêu cầu và mô hình docking này có thể sử dụng được.

Vì cấu trúc tinh thể 6CM4 chỉ xuất hiện gần đây vào năm 2018 nên những nghiên cứu trước đó nếu có thực hiện docking đều phải xây dựng mô hình homology. Mô hình của Sommer T và CS đi từ cấu trúc tinh thể 3SN6, 3P0G, 1AZT để xây dựng mô hình homology bằng chương trình ClustalX, BioEdit, Modeller 9v4, Amber 10, phần mềm docking AutoDock Vina. Nghiên cứu của Sommer T (2017) khi thực hiện docking đã dựa vào mô hình homology của tác giả Kling RC và CS (2013) [9]. Tọa độ thụ thể $\beta 2$ và protein Gas được sử dụng làm hình mẫu để tạo ra mô hình homology của D2R trong phức

hợp với protein Gai1 [10]. Gần đây, các nghiên cứu đã được tiến hành trên cấu trúc tinh thể 6CM4. Năm 2019, tác giả Emanuel DR và CS đã so sánh việc docking trên cấu trúc tinh thể 6CM4 và mô hình homology. Bằng cách đánh giá RMSD trong so sánh vùng gắn kết của protein và đánh giá sàng lọc trên tập phối tử và tập môi, tác giả khuyến cáo rằng nên sử dụng cấu trúc tinh thể trong việc sàng lọc ảo [11]. Năm 2021, tác giả Mejia-Gutierrez M và CS đã thực hiện việc docking lại trên cấu trúc 6CM4, sử dụng phần mềm AutoDock Vina với thiết lập hộp có tọa độ XYZ lần lượt là 9,9; 5,8; -9,5 Å. Điểm số docking là -8,9 kcal/mol (-37,24 kJ/mol) và RMSD 1,244 Å [12]. Điểm số docking và RMSD cho thấy nghiên cứu này và nghiên cứu của Mejia-Gutierrez, M không có khác biệt quá lớn.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình 3D pharmacophore từ 6 thuốc chủ vận và đánh giá trên các thông số đánh giá về độ nhạy, độ đặc hiệu, độ đúng, hiệu suất hoạt tính, điểm GH tương đồng với các nghiên cứu trước đó. Mô hình pharmacophore từ thuốc chủ vận bao gồm 1 điểm ion dương, 1 vòng thơm, 1 điểm kỵ nước, 1 điểm cho hydro. Ngoài ra, nghiên cứu chỉ rõ mô hình Pharmacophore này tốt hơn so với mô hình 11 chất đối vận và mô hình đi

từ cấu trúc tinh thể 6CM4 trong việc tìm kiếm các chất chủ vận với điểm GH 0,64. Mô hình docking được xây dựng từ cấu trúc D2R 6CM4, redocking đạt yêu cầu với giá trị với điểm số docking khoảng -31 kJ/mol, RMSD từ 0,86 - 1,18 Å, có gắn kết với các acid amin quan trọng, đạt yêu cầu. Kết quả docking trên D2R và dopamine có điểm số docking là -18,15 kJ/mol và mô thức gắn kết có liên kết cầu muối với Asp114 và liên kết Hydro với Ser197. Mô hình này cùng với mô hình QSAR nhị phân từ nghiên cứu trước đó có thể sử dụng như “những chiếc phễu lọc” giúp cho việc sàng lọc tìm kiếm thuốc hiệu quả, tiết kiệm thời gian, chi phí, tiền bạc, tăng tốc tìm kiếm các ứng viên cho nghiên cứu *in vitro* và lâm sàng.

Lời cảm ơn: Tôi xin chân thành cảm ơn GS. TS. Thái Khắc Minh, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Missale C, et al. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*. 1998; 78(1): 189-225.
2. Pan X, et al. Dopamine and dopamine receptors in Alzheimer's disease: A systematic review and network meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2019; 11(175):1-14.

3. Zell L, et al. Identification of novel dopamine D(2) receptor ligands- a combined in silico/in vitro approach. *Molecules*. 2022; 27(14).
4. Bùi Quốc Dũng và CS. Nghiên cứu QSAR nhị phân trên các chất chủ vận thụ thể dopamin 2 liên quan đến bệnh Alzheimer. *Tạp chí Y Dược học. Bộ Y tế*. 2020; 2:127-131.
5. Langer T, et al. Pharmacophores and pharmacophore searches. *Wiley*. 2006.
6. Mansour A, et al. Site-directed mutagenesis of the human dopamine D2 receptor. *Eur J Pharmacol*. 1992; 227(2):205-214.
7. Wang S, et al. Structure of the D2 dopamine receptor bound to the atypical antipsychotic drug risperidone. *Nature*. 2018; 555(7695):269-273.
8. Kumar TDA. Drug design: A conceptual overview. *BSP*. 2022.
9. Sommer T, et al. Identification of the beer component hordenine as food-derived dopamine D2 receptor agonist by virtual screening a 3D compound database. *Scientific Reports*. 2017; 7:44201.
10. Kling RC, et al. Active-state models of ternary GPCR complexes: Determinants of selective receptor-g-protein coupling. *PLOS ONE*. 2013; 8(6):e67244.
11. Emanuel DR, Arry Y, and Raymond RT. Comparison of dopamine D2 receptor (homology model and X-ray structure) and virtual screening protocol validation for the antagonism mechanism. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2019; 9:17-22.
12. Mejia-Gutierrez M, et al. In silico repositioning of dopamine modulators with possible application to schizophrenia: Pharmacophore mapping, molecular docking and molecular dynamics analysis. *ACS Omega*. 2021; 6(23):14748-14764.