



Original Article

Screening *In Silico* Lipase Inhibitory Activity of Various Coumarin Compounds for the Treatment of Obesity

Bui Thanh Tung*, Le Thi Huong, Nguyen Thi Hong Hanh, Nguyen Hai Ha

VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 06 July 2023

Revised 17 August 2023; Accepted 10 September 2023

Abstract: Currently, obesity is one of the most common diseases and accounts for a high rate in many countries. Pancreatic lipase (PL) is the major enzyme secreted by the pancreas that has a direct effect on the formation of monoglycerides and free fatty acids. Inhibition of pancreatic lipase enzyme helps to break down fat, reduce kCal, and lose weight. Coumarins are a group of compounds that are active in obesity. Therefore, our study aimed to evaluate and screen coumarin compounds effective in inhibiting lipase enzyme by molecular docking method. As a result, we obtained eight compounds showing lower binding energy values than the positive control Orlistat and satisfying drug-like properties when evaluating the Lipinski rule of five. After that, these compounds continued to analyze pharmacokinetic and toxicological properties (ADMET) to obtain three compounds with the best results: Peucenidin, Edultin, and Xanthalin with good intestinal absorption, well distributed to tissues, metabolized by the liver, hepatic metabolism, renal excretion, and low toxicity. Therefore, further *in vivo* and *in vitro* studies are needed to develop drugs for the treatment of obesity.

Keywords: Obesity, Lipase Enzyme, Coumarin, Molecular Docking.

* Corresponding author.

E-mail address: tungbt.ump@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4535>

Sàng lọc *in silico* một số hợp chất coumarin có tác dụng ức chế enzym lipase tuyến tụy định hướng điều trị bệnh béo phì

Bùi Thanh Tùng*, Lê Thị Hương, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Nguyễn Hải Hà

Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 06 tháng 7 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 17 tháng 8 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 9 năm 2023

Tóm tắt: Hiện nay, béo phì đang là một trong những bệnh phổ biến và chiếm tỷ lệ cao ở nhiều quốc gia. Lipase tụy (PL) là enzym chính được tiết ra từ tuyến tụy, có ảnh hưởng trực tiếp đến việc tạo thành monoglyceride và acid béo tự do. Việc ức chế enzym lipase tụy giúp phân hủy chất béo, làm hao hụt kCal và giảm cân. Coumarin là nhóm hợp chất đã được chứng minh có hoạt tính trên bệnh béo phì. Vì vậy, bài nghiên cứu của chúng tôi nhằm đánh giá và sàng lọc các hợp chất coumarin có tác dụng trong việc ức chế enzym lipase bằng phương pháp docking phân tử. Kết quả, chúng tôi thu được 8 hợp chất cho thấy giá trị năng lượng liên kết thấp hơn so với chất chứng dương là Orlistat và thỏa mãn các đặc tính giống thuốc khi đánh giá quy tắc 5 Lipinski. Sau đó, các hợp chất này tiếp tục tiến hành phân tích các đặc tính dược động học và độc tính (ADMET) thu được 3 hợp chất cho kết quả tốt nhất là Peucenidin, Edultin và Xanthalin với khả năng hấp thu tốt qua ruột, phân bố tốt đến các mô, chuyển hóa qua gan, thải trừ qua thận và có ít độc tính. Vì vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu trên *in vivo* và *in vitro* để đánh giá sâu hơn và phát triển thành thuốc giúp điều trị bệnh béo phì.

Từ khóa: Béo phì, Enzym lipase, Coumarin, Docking phân tử.

1. Mở đầu

Hiện nay, béo phì đang ngày càng trở thành vấn đề được quan tâm trên toàn cầu, tình trạng béo phì gia tăng kéo theo sự gia tăng tỷ lệ mắc các bệnh mãn tính đi kèm khác bao gồm: bệnh tim mạch, tăng huyết áp, tăng mỡ máu, tiểu đường, ung thư,... [1-5]. Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2022, hơn 1 tỷ người trên toàn thế giới bị béo phì. Tại Việt Nam, chế độ ăn uống không lành mạnh, hoạt động thể chất không đủ và thiếu ngủ là một trong những yếu tố nguy cơ dẫn đến thừa cân và béo phì ở trẻ em và thanh thiếu niên trong độ tuổi đi học.

Lipase tuyến tụy thuộc họ serine esterase. Enzym này có trong hệ thống tiêu hóa bao gồm: lipase lưỡi, lipase dạ dày và lipase tụy. Lipase tuyến tụy (PL) là lipase chính được tiết ra từ tuyến tụy, giúp thủy phân lipid (phân hủy 50-70% chất béo) trong đường tiêu hóa và ruột non, chuyển đổi cơ chất triacylglycerol có trong chất béo vào thành monoglyceride và acid béo tự do [6]. Chất ức chế PL có thể làm cho PL mất đi một phần khả năng phân hủy và có thể kiểm soát chất béo đi vào máu từ nguồn cung để đạt được hiệu quả hạ lipid máu.

Coumarins (2H -1-benzopyran-2-one) là nhóm dẫn xuất 1-benzopyran lớn nhất có nguồn

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tungbt.ump@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4535>

gốc từ thực vật được biết đến với các đặc tính dược lý như chống viêm, chống đông máu, kháng khuẩn, kháng nấm, chống ung thư, hạ huyết áp, chống lão, chống tạo mỡ, hạ đường huyết, chống oxy hóa,... [7]. Ngày nay, nhiều hợp chất coumarin chiết xuất từ thiên nhiên đã được chứng minh là có hoạt tính trên bệnh béo phì. Các loại thuốc hiện tại được FDA chấp thuận để điều trị bệnh béo phì là orlistat, phentermine/topiramate, naltrexone/bupropion và liraglutide [8-10]. Tuy nhiên, việc sử dụng các loại thuốc này cũng gây ra các tác dụng phụ như đầy hơi, phân mỡ, nhiễm độc thận, sỏi thận và viêm tụy [9]. Vì vậy, nghiên cứu này thực hiện nhằm góp phần tìm kiếm các hợp chất mới có hiệu quả điều trị cao và ít tác dụng phụ hơn.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Mô hình docking

Chuẩn bị cấu trúc protein: cấu trúc của thụ thể HPL (PDB ID: 1LPB) được lấy từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB (<https://www.rcsb.org/>). Tiến hành loại bỏ phân tử đồng kết tinh - C11 alkyl phosphonate (MUP) và các phân tử nước bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Sau đó, thêm các nguyên tử hydro vào phân tử protein, tính toán điện tích Kollmans và xác định vùng hoạt động của protein bằng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. Vùng hoạt động của HPL được lựa chọn bởi một hộp lưới có kích thước 70x70x70 Å với khoảng cách giữa các ô lưới là 0,375 Å và tọa độ trục là $x= 8,431$, $y= 24,417$, $z= 52,623$ được xác định dựa theo vị trí gắn kết của phối tử đồng kết tinh và một số acid amin quan trọng trong vùng hoạt động [11]. Sau đó, protein được lưu dưới dạng pdbqt.

Chuẩn bị cấu trúc phối tử: cấu trúc 3D của các hợp chất Coumarin được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) và lưu ở định dạng sdf sau đó chuyển thành định dạng pdb bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 2021. Tiếp theo, các phối tử được tối ưu hóa bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate

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

Thực hiện docking phân tử: các hợp chất được dock vào trung tâm hoạt động của protein sử dụng phần mềm Autodock Tools.

2.2. Đánh giá kết quả docking

Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử đồng kết tinh thể sau khi được tách ra khỏi protein sẽ được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu. Cấu trúc tương tác tốt nhất với HPL được thể hiện thông qua liên kết sâu trong vùng hoạt động, đó là các liên kết hydro với các acid amin Phe77, Ser152, Leu153 và His263 [11]. Kết quả quá trình docking được gọi là đáng tin cậy nếu giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) nhỏ hơn 1,5 Å [12]. Đối với các chất cần docking, khả năng gắn kết của chúng được đánh giá thông qua tương tác với các acid amin trong hốc phản ứng và năng lượng tương tác tính bởi hàm tính điểm (scoring function) của Autodock vina.

2.3. Đánh giá quy tắc Lipinski 5

Quy tắc Lipinski 5 được sử dụng để đánh giá tính giống thuốc và không giống thuốc giữa các hợp chất, sử dụng công cụ trực tuyến (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>) tại pH=7. Quy tắc này giúp dự đoán một phân tử có khả năng có các hoạt tính sinh học, hóa học và vật lý để có thể sử dụng được qua đường uống hay không thông qua các tiêu chí đánh giá: trọng lượng phân tử, số nhóm cho/nhận liên kết hydro, hệ số phân bố octanol/nước và độ khúc xạ mol.

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

Dự đoán ADMET bao gồm: hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính. Việc đánh giá các thông số dược động học và độc tính được thực hiện bằng cách sử dụng công cụ pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>). Công thức SMILES của các phối tử được tải về từ cơ sở dữ liệu PubChem (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) và dùng làm

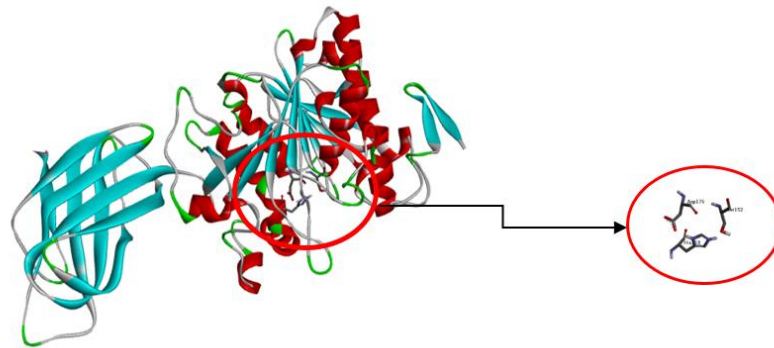
dữ liệu đầu vào. Sau khi lựa chọn được các hợp chất giống thuốc, tiếp tục tiến hành phân tích các thông số dược động học và độc tính để cho ra kết quả cuối cùng.

3. Kết quả

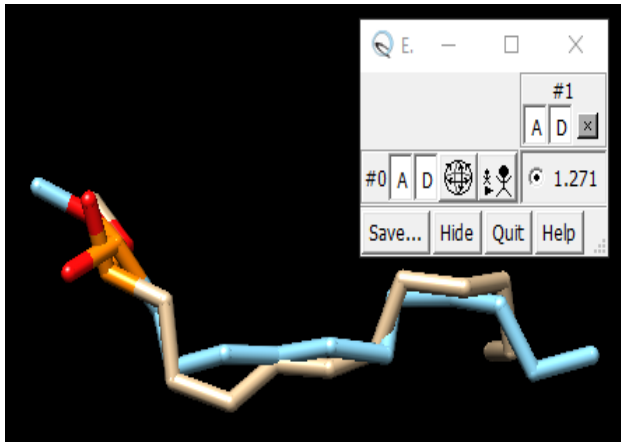
3.1. Đánh giá mô hình docking

Trước khi sàng lọc các hợp chất, phối tử đồng kết tinh cần được re-dock lại vào vị trí hoạt

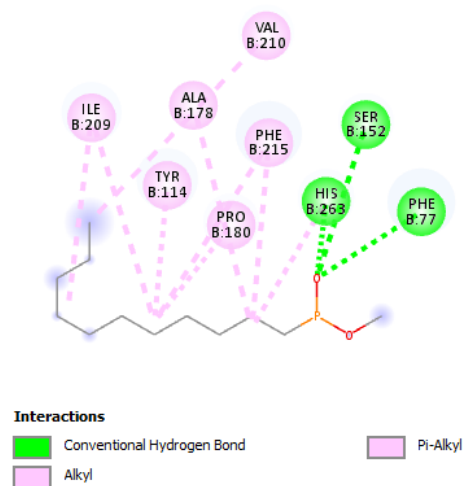
động của mục tiêu để xác định độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) từ đó đánh giá tính phù hợp của các thông số docking. Đánh giá sự tương đồng về cấu dạng, xác định giá trị RMSD bằng phần mềm Chimera thu được sự chồng khít về cấu trúc của phối tử đồng kết tinh thể trước và sau khi dock với giá trị RMSD là $1,271 \text{ \AA} < 1,5 \text{ \AA}$ (Hình 2) chứng tỏ quá trình docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy [12]. Hình 3 thể hiện tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với các acid amin tại vị trí hoạt động của protein.



Hình 1. Cấu trúc 3D của enzym Lipase và bộ ba xúc tác của SER152, ASP176, HIS263.



Hình 2. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh với 1LPB.



Hình 3. Tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với acid amin.

Cấu trúc HPL có hai trạng thái: trạng thái đóng và trạng thái mở. Vị trí và cấu tạo của các acid amin tạo thành bộ ba xúc tác bao gồm Ser152, Asp176, His263. Trong đó, một chất đồng kết tinh C11-alkyl phosphonate (Methoxy undecyl phosphinic acid (MUP)) trong vị trí hoạt động của HPL có vai trò như chất ức chế lipase. Hợp chất này ức chế lipase tuyến tụy hiệu quả hơn nhiều so với các hợp chất organophosphate chuỗi ngắn. Hiệu quả của chất ức chế này có thể được đánh giá từ các tương tác giữa chuỗi dài C11-alkyl kỵ nước và các acid amin chính tại vị trí hoạt động [13].

Phối tử đồng kết tinh MUP được tìm thấy có tương tác sâu bên trong vị trí hoạt động của enzym, tham gia tích cực vào hoạt động phân

giải mỡ. Hình 3 cho thấy MUP liên kết mạnh với protein bằng 3 liên kết hydro được hình thành bởi các acid amin Ser152, Phe77 và His263. Đây là các acid amin thuộc bộ ba xúc tác (Ser152, Asp176, His263) và Phe77, một acid amin quan trọng cho hoạt động của enzym lipase, tham gia tích cực vào hoạt động phân giải mỡ [14-16].

3.2. Kết quả quá trình docking các hợp chất với protein mục tiêu

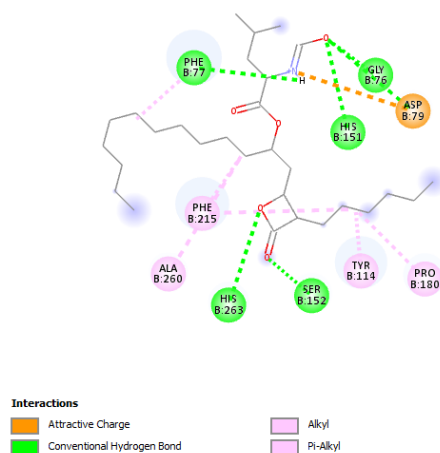
Sau khi tìm kiếm, chúng tôi thu được 50 hợp chất Coumarin. Tiến hành quá trình docking 50 hợp chất này vào vị trí hoạt động của thụ thể 1LPB. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả docking của 50 hợp chất coumarin và chứng dương Orlistat với protein 1LPB

STT	Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kCal/mol)	STT	Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kCal/mol)
Nhóm 1. Coumarin đơn			Nhóm 2. Furanocoumarin (Furocoumarin)		
1	Umbelliferone	-7,2	15	Imperatorin	-8,7
2	Coumarin	-7,0	16	Isoimperatorin	-8,2
3	Esculetin	-7,6	17	Psoralen	-7,8
4	Cichoriin	-8,6	18	Bergaptol	-7,8
5	Aculeatin	-8,0	19	Methoxsalen	-7,8
6	Scopoletin	-7,5	20	Marmesin	-8,6
7	Osthole	-7,6	21	Ammijin	-9,6
8	Fraxin	-8,3	22	Rutaretin	-8,5
9	Herniarin	-7,0	23	Angelicin	-7,8
10	Aesculin	-8,4	24	Sphondin	-7,5
11	Novobioxin	-8,6	25	Isobergaptin	-7,5
12	Daphnin	-7,8	26	Phellopterin	-8,3
13	Calycanthoside	-7,7	27	Peucedanin	-8,3
14	Suberosin	-7,8	28	Nodakenetin	-8,7
Nhóm 3. Pyranocoumarin			29	Athamantin	-8,6
32	Xanthyletin	-8,3	30	Edultin	-9,4
33	Xanthoxyletin	-8,5	31	Peucenidin	-9,5
34	Nordentatin	-8,6	Một số nhóm khác		
35	Luvangetin	-8,8	44	Frutinin A	-10,9
36	Xanthalin	-9,2	45	Scandenin	-8,7
37	Seselin	-8,0	46	Calophyllolid	-9,5
38	Xanthogalin	-8,5	47	Phyllocoumarin	-9,5
39	Samidin	-8,2	48	Hydrangenol	-9,6
40	(+) <i>cis</i> Khellactone	-8,3	49	Chartreusin	-10,5
41	Visnadin	-8,2	50	3''-Demetylchartreusin	-10,2
42	Avicennin	-8,9	Chứng dương		
43	Alloxanthoxyletin	-8,0		Orlistat	-6,7

Orlistat là một dẫn xuất hydro hóa của lipstatin, được sản xuất bởi *Streptomyces toxytricini* và hoạt động bằng cách làm giảm sự hấp thu chất béo trong chế độ ăn uống [17]. Đây là thuốc được biết đến như một chất ức chế không thể đảo ngược lipase tuyến tụy và dạ dày bằng cách hình thành liên kết cộng hóa trị với vị trí hoạt động của lipase trong lòng đường tiêu hóa. Trong một số thử nghiệm kéo dài, việc sử dụng Orlistat cho thấy hiệu quả hơn chế độ ăn kiêng đơn thuần để giảm cân và duy trì cân nặng đã giảm [18, 19]. Hiện nay, Orlistat là thuốc không kê đơn duy nhất có cơ chế ức chế HPL được FDA chấp thuận sử dụng trong điều trị béo phì [20].

Hình 4 là kết quả tương tác 2D giữa Orlistat với protein 1LPB. Orlistat cho thấy liên kết mạnh với HPL qua 5 liên kết hydro (Phe77, Gly76, His151, His263, Ser152) và các tương tác kỵ nước khác nhau. Vòng lacton và chuỗi bên acid amin của Orlistat đóng vai trò chính trong việc hình thành năm liên kết hydro này với các gốc Ser152, Phe77, His151, Asp79 và Gly76. Cấu hình tương tác của Orlistat và MUP với HPL cho thấy có sự giống nhau về cấu trúc của chúng trong vị trí hoạt động của enzym. Những điểm tương đồng về cấu trúc này gợi ý khả năng của các cực quang tương tác với vị trí hoạt động của HPL.



Hình 4. Tương tác giữa Orlistat với 1LPB.

Từ kết quả thu được, chúng tôi chọn ra 10 hợp chất có điểm số docking tốt nhất so với chất chứng dương Orlistat và hình thành liên kết tốt với các acid amin quan trọng. Đó là Frutinin A với năng lượng $-10,9$ kcal/mol; Chartreusin là $-10,5$ kcal/mol; 3"-Demetylchartreusin là $-10,2$ kcal/mol; Ammijin là $-9,6$ kcal/mol; Hydrangenol là $-9,6$ kcal/mol; Peucenidin là $-9,5$ kcal/mol; Calophyllolid là $-9,5$ kcal/mol; Phyllocoumarin là $-9,5$ kcal/mol; Edultin là $-9,4$ kcal/mol và Xanthalin là $-9,2$ kcal/mol. Giá trị năng lượng liên kết và tương tác acid amin của các hợp chất này với protein được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. 10 hợp chất có năng lượng liên kết tốt nhất và tương tác của các phối tử với protein 1LPB

STT	Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	Liên kết hydro	Tương tác π - π
1	Frutinin A	-10,9	SER152, HIS263	PHE77, TYR114, PHE215
2	Chartreusin	-10,5	SER152, PHE77	PHE215
3	3"-Demetylchartreusin	-10,2	SER152	TYR114, PHE77, PHE215
4	Ammijin	-9,6	SER152, PHE77	TYR114
5	Hydrangenol	-9,6	SER152, HIS263	TYR114, PHE215
6	Peucenidin	-9,5	SER152, HIS263, ARG256	PHE77, TYR114, PHE215
7	Calophyllolid	-9,5	SER152	PHE77, TYR114, PHE215
8	Phyllocoumarin	-9,5	HIS263	PHE77, TYR114, PHE215
9	Edultin	-9,4	SER152, HIS263, PHE77	TYR114, PHE215
10	Xanthalin	-9,2	SER152, TYR114	PHE215

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

Các hợp chất được gọi là “giống thuốc” khi chúng đáp ứng ít nhất 2 trong 5 tiêu chí của quy tắc 5 tiêu chí Lipinski: khối lượng phân tử (MW) < 500 Da; có tính ưa dầu cao ($\log P < 5$); ít hơn 5 nhóm cho liên kết hydrogen (HBD < 5); ít hơn 10 nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA < 10); độ khúc xạ mol (MR) phải nằm trong khoảng 40-130.

Từ kết quả Bảng 3 cho thấy, có 8 hợp chất thỏa mãn nhiều hơn 2 tiêu chí, đó là Frutinon A (C1), Ammijin (C2), Hydrangenol (C3), Peucenidin (C4), Calophyllolid (C5), Phyllocoumarin (C6), Edultin (C7) và Xanthalin (C8). Tiếp theo, 8 hợp chất này tiếp tục được đánh giá các đặc tính về dược động học - độc tính bằng dự đoán ADMET.

Bảng 3. Kết quả các thông số quy tắc 5 Lipinski

STT	Tên hợp chất	MW	HBD	HBA	LogP	MR
1	Frutinon A	264,236	0	4	2,592	70,397
2	Chartreusin	640,594	5	14	0,94762	154,03
3	3"-Demethylchartreusin	626,567	6	14	0,29352	149,239
4	Ammijin	408,403	4	9	-0,4826	98,162
5	Hydrangenol	256,257	2	4	2,552	68,074
6	Peucenidin	386,4	0	7	3,272	99,636
7	Calophyllolid	416,473	0	5	5,378	119,652
8	Phyllocoumarin	342,303	4	7	1,7727	85,627
9	Edultin	386,4	0	7	3,272	99,636
10	Xanthalin	426,465	0	7	4,218	113,393

3.4. Kết quả dự đoán ADMET

Về hấp thu, khả năng hấp thu của một chất được đánh giá dựa vào các thông số: độ tan trong nước, tính thấm qua màng Caco2 và khả năng hấp thu ở ruột (người). Một chất được cho là có khả năng thấm tốt khi tính thấm qua màng Caco2 ($\log P_{app}$ trong 10^{-6} cm/s) có giá trị lớn hơn 0,9 [21]. Kết quả từ Bảng 4 cho thấy, có 6 hợp chất là Frutinon A, Hydrangenol, Peucenidin, Calophyllolid, Edultin và Xanthalin có tính thấm Caco2 lớn hơn 0,9. Đặc biệt, Frutinon A, Peucenidin và Xanthalin cho kết quả khả năng hấp thu đạt tối đa 100%.

Về phân bố, các hợp chất được cho là phân bố tốt đến các mô nếu giá trị $\log VD_{ss} > 0,45$ và phân bố kém nếu $\log VD_{ss} < -0,15$ [21]. Bảng 4 cho thấy Calophyllolid và Phyllocoumarin là 2 hợp chất có giá trị $\log VD_{ss} > 0,45$ với giá trị lần lượt là 0,47 và 0,911. Ngoài ra, hai thông số tính thấm qua hàng rào máu não (BBB) và hệ thần kinh trung ương (CNS) rất quan trọng khi đánh giá tính an toàn đối với hệ thần kinh của dược chất. Giá trị $\log BB$ lớn hơn 0,3 được cho là có

khả năng hấp thu tốt qua hàng rào máu não và giá trị $\log PS$ lớn hơn -2 được cho là có khả năng thâm qua hệ thần kinh trung ương. Kết quả là, hai hợp chất Frutinone A và Xanthalin với $\log BB$ tương ứng là 0,387 và 0,886 cho thấy khả năng qua hàng rào máu não tốt. Bên cạnh đó, tính thấm qua hệ thần kinh trung ương ($\log PS$) của Calophyllolid và Frutinone A tương ứng là -1,678 và -1,691, lớn hơn -2. Vì vậy, 2 hợp chất này có khả năng thâm qua hệ thần kinh trung ương.

Về chuyển hóa, hệ cytochrome P450 là hệ enzym quan trọng trong quá trình chuyển hóa thuốc ở gan với hai CYP quan trọng là CYP3A4 và CYP2D6. Bảng 4 cho thấy 5 hợp chất là Frutinon A, Peucenidin, Calophyllolid, Edultin và Xanthalin là cơ chất của CYP3A4. Vì vậy, có thể chuyển hóa ở gan. Ngoài ra, Peucenidin, Calophyllolid, Edultin và Xanthalin được dự đoán ức chế CYP3A4 có khả năng làm tăng sinh khả dụng của các thuốc khác bị chuyển hóa bởi enzym CYP3A4 nếu được sử dụng cùng nhau.

Về thải trừ, 4 chất Frutinon A, Peucenidin, Edultin và Xanthalin có khả năng thải trừ qua

thận khá nhanh. Bên cạnh đó, tất cả 8 hợp chất được dự đoán không phải là chất nền của chất vận chuyển cation hữu cơ ở thận (OCT2), vì vậy có thể không xảy ra tương tác bất lợi với các chất ức chế OCT2 khi sử dụng đồng thời.

Về độc tính, dự đoán độc tính từ thử nghiệm AMES (xét nghiệm đột biến ngược *Salmonella typhimurium*) cho thấy Frutinon A và

Hydrangenol có nguy cơ gây đột biến dẫn đến ung thư, còn lại 6 hợp chất được dự đoán không có độc tính AMES. Ngoài ra, Calophyllolid và Phyllocoumarin có thể gây ra độc tính trên tim khi ức chế hERG II. Ammijin, Peucenidin, Edultin và Xanthalin có thể có độc tính trên gan. Tất cả các chất đều không gây kích ứng da.

Bảng 4. Kết quả dự đoán ADMET

Hợp chất	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hấp thu								
Độ tan trong nước (log mol/l)	-3,837	-2,882	-3,24	-4,706	-5,699	-3,222	-4,382	-5,236
Tính thấm màng Caco2 (log Papp trong 10 ⁻⁶ cm/s)	1,356	0,542	1,3	1,159	1,121	0,076	1,346	0,946
Hấp thu ở ruột (người) (%)	100	45,017	93,858	100	98,504	79,113	100	100
Tính thấm qua da	-2,48	-2,847	-2,757	-2,95	-2,702	-2,735	-2,956	-2,893
Phân bố								
Thể tích phân bố (người) (VDss) (log L/kg)	0,098	-0,393	0,041	-0,308	0,47	0,911	-0,471	-0,29
Tính thấm hàng rào máu não (log BB)	0,387	-1,25	0,075	-0,807	-0,823	-1,122	-0,866	0,866
Tính thấm hệ thần kinh trung ương (log PS)	-1,691	-3,565	-2,136	-3,132	-1,678	-3,231	-3,215	-2,894
Chuyển hóa								
Cơ chất CYP2D6	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không
Cơ chất CYP3A4	Có	Không	Không	Có	Có	Không	Có	Có
Ức chế CYP2D6	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không
Ức chế CYP3A4	Không	Không	Không	Có	Có	Không	Có	Có
Thải trừ								
Độ thanh thải toàn phần (log ml/min/kg)	0,828	0,447	0,485	0,876	0,757	0,385	0,971	1,047
Cơ chất OCT2 trong thận	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không
Độc tính								
Độc tính AMES	Có	Không	Có	Không	Không	Không	Không	Không
Ức chế hERG I	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không
Ức chế hERG II	Không	Không	Không	Không	Có	Có	Không	Không
Độc tính gan	Không	Có	Không	Có	Không	Không	Có	Có
Kích ứng da	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không	Không

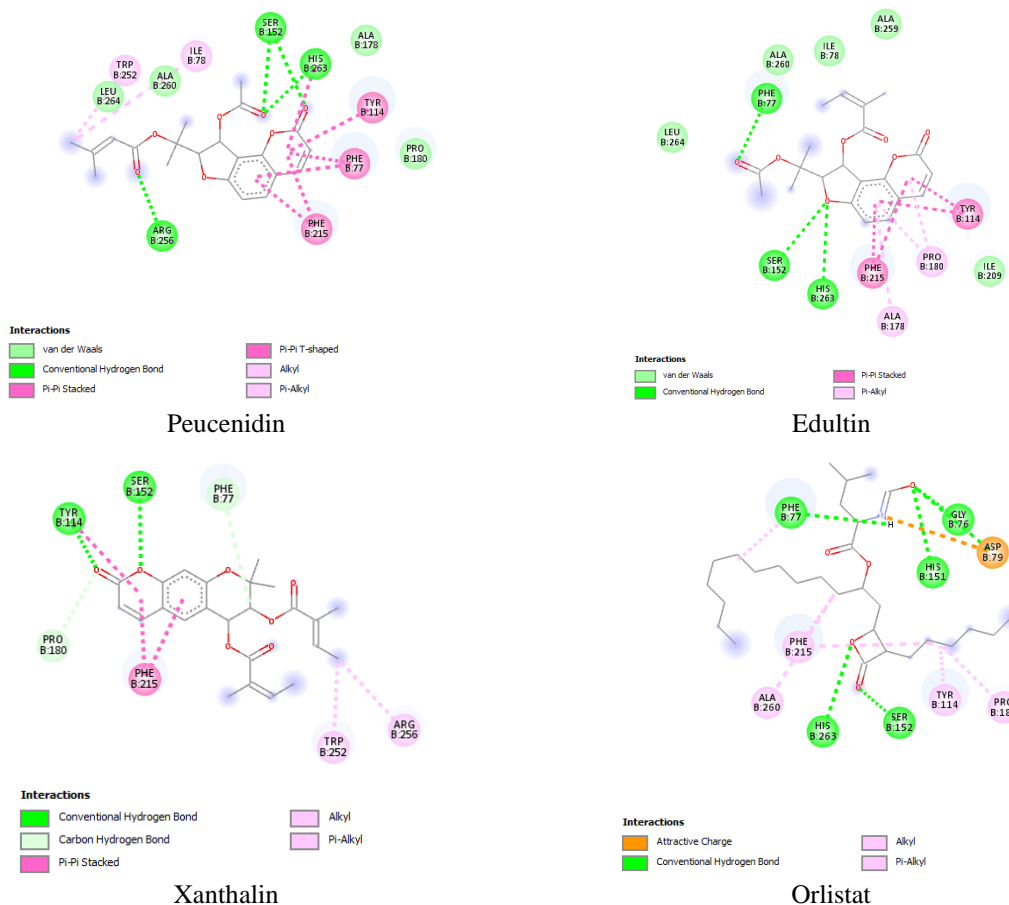
4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành sàng lọc ảo 50 hợp chất Coumarin có nguồn gốc thiên nhiên được tải về từ thư viện hóa học PubChem. Nhiều hợp chất cho thấy khả năng gắn kết khá tốt do có các vòng thơm tạo tương

tác π - π ổn định và nhiều nhóm carbonyl tạo liên kết hydro với các acid amin quan trọng thủy phân các liên kết ester của lipase nhằm ức chế enzym. Sau quá trình sàng lọc, có 3 hợp chất trong số đó cho thấy tính khả quan nhất về mặt dược động học và độc tính là Peucenidin, Edultin và Xanthalin.

Hình 5 cho thấy, cả 3 hợp chất đều tạo liên kết hydro với các acid amin quan trọng như: Ser152, His263, Phe77, Gly76. Ngoài ra, các tương tác π - π , alkyl tại vị trí các vòng thơm cũng

cho thấy có sự tương đồng giữa các hợp chất và chất chướng dương thông qua các acid amin: Phe215, Tyr114, Phe77.



Hình 5. Tương tác giữa Peucenidin, Edultin, Xanthalin và Orlistat với 1LPB.

Orlistat là một dẫn xuất hydro hóa của lipstatin, được sản xuất bởi *Streptomyces toxytricini* và hoạt động bằng cách làm giảm sự hấp thu chất béo trong chế độ ăn uống [17]. Đây là thuốc được biết đến như một chất ức chế không thể đảo ngược lipase tuyến tụy và dạ dày bằng cách hình thành liên kết cộng hóa trị với vị trí hoạt động của lipase trong lòng đường tiêu hóa. Trong một số thử nghiệm kéo dài, việc sử dụng Orlistat cho thấy hiệu quả hơn chế độ ăn kiêng đơn thuần để giảm cân và duy trì cân nặng đã giảm [18, 19]. Hiện nay, Orlistat là thuốc không kê đơn duy nhất có cơ chế ức chế HPL được FDA chấp thuận sử dụng trong điều trị béo phì [20].

Peucenidin là một furanocoumarin được tìm thấy trong nhiều loài thực vật như *Peucedanum oreoselinum*, *P.ruthenicum*, *P.tauricum*, *Phlojodicarpus turczanhmvii*, *Seseli laxicolum* [22]. Furanocoumarin là một nhóm các hợp chất chuyển hóa thứ cấp thường có trong thực vật bậc cao, chủ yếu có trong bưởi (*Citrus paradisi*). Gần đây, furanocoumarin trong bưởi đã được chứng minh là có một số hoạt tính sinh học bao gồm các hoạt động chống oxy hóa, chống viêm và ung thư, tăng cường sức khỏe của xương. Đặc biệt, furanocoumarins có khả năng chống tăng sinh của tế bào ung thư thông qua các cơ chế như điều chỉnh bộ chuyển đổi tín hiệu và bộ kích hoạt

phiên mã, phosphatidylinositol-3-kinase/AKT, và biểu hiện protein kinase hoạt hóa bằng mitogen [23]. Hiện nay, chưa có nghiên cứu thực nghiệm đối với tác dụng ức chế 1LPB của Peucedidin.

Edultin là một furanocoumarin tự nhiên, được phân lập từ vỏ quả *Peucedanum cervaria* [24]. Edultin có nhiều ứng dụng tiềm năng trong nghiên cứu khoa học, đặc biệt là trong lĩnh vực hóa sinh và sinh lý học. Trong một nghiên cứu cho thấy hợp chất này có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm [25]. Theo nghiên cứu khác, Zhang và cộng sự cho biết Edultin là 1 trong 3 coumarin được phân lập từ hạt của *C. monnieri* (L.) Cusson. có tác dụng đảo ngược sự đa kháng thuốc (MDR) trong các tế bào KBV200 - một dòng tế bào ung thư biểu bì MDR cổ điển ở người [26].

Xanthalin được phân lập từ rễ của cây *Xanthogalum purpurascens* mọc ở Transcaucasus [27]. Hợp chất này cho giá trị năng lượng docking là -9,2 kCal/mol, khả năng hấp thu tốt (100% qua ruột, tính thấm màng Caco2 là 0,946), có thể qua được hàng rào máu não nhưng không thấm qua hệ thần kinh trung ương, thải trừ nhanh qua thận, không có khả năng gây độc trên tim và độc tính AMES. Tuy nhiên, Xanthalin có thể gây độc tính trên gan và có thể bị chuyển hóa ở gan. Hiện nay, các nghiên cứu về tác dụng của Xanthalin vẫn còn hạn chế. Vì vậy, cần có những nghiên cứu sâu hơn về tác dụng của hợp chất này đối với cơ thể người và lưu ý với các ảnh hưởng trên gan.

Docking là một kỹ thuật sàng lọc ảo phổ biến hiện nay để mô phỏng các tương tác giữa protein và phối tử, ứng dụng vào sàng lọc một cơ sở dữ liệu lớn các chất để tìm ra hợp chất tiềm năng. Phân tích hàm tính điểm (năng lượng liên kết) và các tương tác từ kết quả đầu ra của docking cho phép chúng ta có thể kết luận một cách sơ bộ hợp chất đó có hay không có hoạt tính ức chế protein. Điều này giúp thu hẹp cơ sở dữ liệu, lựa chọn các hợp chất thiết kế có hoạt tính trước khi tiến hành các thử nghiệm sâu hơn.

Tuy nhiên, phương pháp docking phân tử vẫn còn tồn tại một số hạn chế như sử dụng nhiều phần mềm khác nhau, mỗi phần mềm có các thuật toán riêng, điều này có thể dẫn đến kết quả thu được không thống nhất. Chính vì vậy, sau khi có kết quả từ nghiên cứu này, việc tiếp tục thử

nghiệm trên các mô hình tế bào hay động vật là vô cùng quan trọng, để có thể xác định chính xác ứng cử viên tiềm năng trở thành thuốc.

5. Kết luận

Từ kết quả sàng lọc 50 hợp chất Coumarin, chúng tôi thu được 10 hợp chất có năng lượng liên kết thấp nhất và nằm trong vùng hoạt động của protein. Sau đó, chúng tôi tiến hành đánh giá tính giống thuốc và dự đoán các thông số về dược động học, độc tính (ADMET), thu được 3 hợp chất là Peucedidin, Edultin và Xanthalin cho kết quả khả quan nhất: hấp thu tốt qua ruột, phân bố tốt đến các mô, thải trừ nhanh qua thận, ít độc tính. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* để phát triển những hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị béo phì.

Tài liệu tham khảo

- [1] P. L. Martel et al., Alcoholic Beverages, Obesity, Physical Activity and Other Nutritional Factors, and Cancer Risk: A Review of the Evidence, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, Vol. 99, 2016, pp. 308-323, <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.01.002>.
- [2] L. G. Teixeira et al., The Combination of High-Fat Diet-Induced Obesity and Chronic Ulcerative Colitis Reciprocally Exacerbates Adipose Tissue and Colon Inflammation, *Lipids in Health and Disease*, Vol. 10, No. 1, 2011, pp. 1-15, <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-204>.
- [3] S. Doll et al., Body Mass Index, Abdominal Adiposity and Blood Pressure: Consistency of Their Association Across Developing and Developed Countries, *International Journal of Obesity*, Vol. 26, No. 1, 2002, pp. 48-57, <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801854>.
- [4] S. A. Keramat et al., Obesity and the Risk of Developing Chronic Diseases in Middle-Aged and Older Adults: Findings from an Australian Longitudinal Population Survey, 2009-2017, *PLoS One*, Vol. 16, No. 11, 2021, pp. e0260158, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260158>.
- [5] M. Schetz et al., Obesity in The Critically Ill: A Narrative Review, *Intensive Care Medicine*, Vol. 45, 2019, pp. 757-769, <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05594-1>.
- [6] T. T. Liu et al., Lipase Inhibitors for Obesity: A Review, *Biomedicine & Pharmacotherapy*,

- Vol. 128, 2020, pp. 1-9,
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110314>.
- [7] A. D. Kinghorn, Progress in the Chemistry of Naturally Occurring Coumarins, S. D. Sarker, and L. Nahar, Progress in The Chemistry of Organic Natural Product, Springer Cham, Springer International Publishing AG, 2017, pp. 241-304.
- [8] X. Lin, H. Li, Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics, *Frontiers in Endocrinology*, Vol. 12, 2021, pp. 1-9,
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.706978>.
- [9] H. L. Daneschvar, M. D. Aronson, G.W. Smetana, FDA-Approved Anti-Obesity Drugs in the United States, the *American Journal of Medicine*, Vol. 129, No. 8, 2016, pp. 1-6,
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2016.02.009>.
- [10] K. Woodard, L. Louque, D. S. Hsia, Medications for the Treatment of Obesity in Adolescents, *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, Vol. 11, 2020, pp. 1-12,
<https://doi.org/10.1177/2042018820918789>.
- [11] N. V. P. Thuy et al., Exploring Aurone Derivatives as Potential Human Pancreatic Lipase Inhibitors Through Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations, *Molecules*, Vol. 25, No. 20, 2020, pp. 1-15,
<https://doi.org/10.3390/molecules25204657>
 (in Vietnamese).
- [12] H. Gohlke, M. Hendlich, G. Klebe, Knowledge-Based Scoring Function to Predict Protein-Ligand Interactions, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 295, No. 2, 2000, pp. 337-356,
<https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3371>.
- [13] M. P. Eglhoff et al., The 2.46. ANG. Resolution Structure of the Pancreatic Lipase-Colipase Complex Inhibited by a C11-Alkyl Phosphonate, *Biochemistry*, Vol. 34, No. 9, 1995, pp. 2751-2762,
<https://doi.org/10.1021/bi00009a003>.
- [14] F. K. Winkler, A. D'Arcy, W. Hunziker, Structure of Human Pancreatic Lipase, *Nature*, Vol. 343, No. 6260, 1990, pp. 771-774,
<https://doi.org/10.1038/343771a0>.
- [15] Q. L. Peng, H. P. Märki, P. Hadváry, Identification of the Active-Site Serine in Human Pancreatic Lipase by Chemical Modification with Tetrahydropipstatin, *FEBS Letters*, Vol. 299, No. 1, 1992, pp. 111-115,
[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80112-T](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80112-T).
- [16] M. Cygler, J. D. Schrag, F. Ergan, Advances in Structural Understanding of Lipases, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, Vol. 10, No. 1, 1992, pp. 143-184,
<https://doi.org/10.1080/02648725.1992.10647887>.
- [17] N. A. Lunagariya et al., Inhibitors of Pancreatic Lipase: State of the Art and Clinical Perspectives, *EXCLI Journal*, Vol. 13, 2014, pp. 897-921,
<https://doi.org/10.17877/DE290R-6941>.
- [18] A. M. Heck, J. A. Yanovski, K. A. Calis, Orlistat, A New Lipase Inhibitor for the Management of Obesity, *Pharmacotherapy: the Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, Vol. 20, No. 3, 2000, pp. 270-279,
<https://doi.org/10.1592/phco.20.4.270.34882>.
- [19] P. Hadvary et al., The Lipase Inhibitor Tetrahydropipstatin Binds Covalently to the Putative Active Site Serine of Pancreatic Lipase, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 266, No. 4, 1991, pp. 2021-2027,
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)52203-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)52203-1).
- [20] E. Pilitsi et al., Pharmacotherapy of Obesity: Available Medications and Drugs Under Investigation, *Metabolism*, Vol. 92, 2019, pp. 170-192,
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.10.010>.
- [21] D. E. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher, pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 58, No. 9, 2015, pp. 4066-4072,
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- [22] V. M. Malikov, A. Saidkhodzhaev, Coumarins. Plants, Structure, Properties, Chemistry of Natural Compounds, Vol. 34, 1998, pp. 345-409,
<https://doi.org/10.1007/BF02282423>.
- [23] W. L. Hung, J. H. Suh, Y. Wang, Chemistry and Health Effects of Furanocoumarins in Grapefruit, *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 25, No. 1, 2017, pp. 71-83,
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.008>.
- [24] K. S. Woźniak, T. Mroczek, E. Kozioł, High-Performance Countercurrent Chromatography Separation of Peucedanum Cervaria Fruit Extract for the Isolation of Rare Coumarin Derivatives, *Journal of Separation Science*, Vol. 38, No. 2, 2015, pp. 179-186,
<https://doi.org/10.1002/jssc.201401072>.
- [25] T. Ng et al., Examination of Coumarins, Flavonoids and Polysaccharopeptide for Antibacterial Activity, *General Pharmacology*, Vol. 27, No. 7, 1996, pp. 1237-1240,
[https://doi.org/10.1016/0306-3623\(95\)02143-4](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02143-4).
- [26] C. Li, B. Q. Sun, X. D. Gai, Compounds from Chinese Herbal Medicines as Reversal Agents for P-glycoprotein-Mediated Multidrug Resistance in Tumours, *Clinical and Translational Oncology*, Vol. 16, 2014, pp. 593-598,
<https://doi.org/10.1007/s12094-014-1169-7>.
- [27] N. I. Sokolova et al., The Structure of Xanthalin, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 4, 1968, pp. 237-239,
<https://doi.org/10.1007/BF00568527>.