



Original Article

Study the EGFR and HER2 Receptors Inhibitory Effect of Compounds in *Siegesbeckia orientalis* L. for Supporting Cancer Treatment

Do Thi Hang¹, Tran Hoang Mai², Le Thi Huong², Do Thi Hong Khanh²,
Nguyen Thi Thuy², Nguyen Van Khoi³, Nguyen Thi Thanh Binh², Bui Thanh Tung^{2,*}

¹Phuc Yen Region General Hospital, Group 1, Hung Vuong, Phuc Yen, Vinh Phuc, Vietnam

²VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

³Military Hospital 103, 261 Phung Hung, Phuc La, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

Received 13 April 2022

Revised 23 May 2022; Accepted 25 May 2022

Abstract: Epidermal growth factor receptor (EGFR) and Human epithelium receptor 2 (HER2) are important targets in cancer treatment such as lung cancer, breast cancer. *Siegesbeckia orientalis* L. is a medicinal plant that has the ability to inhibit the proliferation of cancer cells. In this study, we evaluated the ability to inhibit EGFR and HER2 receptors of compounds from the *Siegesbeckia orientalis* L. by molecular docking method. Based on the published phytochemicals of *Siegesbeckia orientalis* L., we have collected 50 isolated compounds. Molecular docking results showed that the ability to inhibit EGFR was higher than erlotinib with 34 compounds, higher than icotinib with 7 compounds, higher than almonertinib with 21 compounds, and higher than olmutinib with 3 compounds; 4 compounds with higher ability to inhibit HER2 than neratinib, and 4 compounds may inhibit both EGFR and HER2 receptors simultaneously. Analysis of Lipinski's rule of five and predicting pharmacokinetic - toxicological parameters, we obtained two compounds that have drug-like properties. Therefore, these two compounds have the potential to be drugs that inhibit EGFR and HER2 receptors for cancer treatment and need to be studied further.

Keywords: EGFR, HER2, Molecular docking, *Siegesbeckia orientalis* L.

* Corresponding author.

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

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4398>

Nghiên cứu tác dụng ức chế thụ thể EGFR và HER2 của các hợp chất trong dược liệu Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L.) định hướng điều trị ung thư

Đỗ Thị Hằng¹, Trần Hoàng Mai², Lê Thị Hương², Đỗ Thị Hồng Khánh², Nguyễn Thị Thúy², Nguyễn Văn Khởi³, Nguyễn Thị Thanh Bình², Bùi Thanh Tùng^{2,*}

¹Bệnh viện Đa khoa Khu vực Phúc Yên, Tổ 1, Hùng Vương, Phúc Yên, Vĩnh Phúc, Việt Nam

²Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Bệnh viện Quân Y 103, Số 261 Phùng Hưng, Phúc La, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 13 tháng 4 năm 2022

Chỉnh sửa ngày 23 tháng 5 năm 2022; Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 5 năm 2022

Tóm tắt: Thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR – Epidermal growth factor receptor) và thụ thể yếu tố phát triển biểu mô 2 (HER2 - Human epithelium receptor 2) là các đích quan trọng trong điều trị ung thư như ung thư phổi, ung thư vú. Hy thiêm là dược liệu có khả năng ức chế tăng sinh tế bào ung thư. Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá khả năng ức chế hai thụ thể EGFR và HER2 của các hợp chất từ dược liệu Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L.) bằng phương pháp docking phân tử. Dựa trên các công bố về thành phần hóa học của cây Hy thiêm, chúng tôi đã thu thập 50 hợp chất đã được phân lập. Kết quả docking phân tử cho thấy khả năng ức chế EGFR cao hơn erlotinib có 34 hợp chất, cao hơn icotinib có 7 hợp chất, cao hơn almonertinib có 21 hợp chất và cao hơn olmutinib có 3 hợp chất; 4 hợp chất có khả năng ức chế HER2 cao hơn neratinib, 4 hợp chất có khả năng ức chế đồng thời 2 thụ thể EGFR và HER2. Tiến hành phân tích theo quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski và dự đoán các thông số dược động học - độc tính học thu được 2 hợp chất có đặc tính giống thuốc. Vì vậy, hai hợp chất này có tiềm năng để phát triển thành thuốc có tác dụng ức chế các thụ thể EGFR và HER2 để điều trị ung thư và cần được nghiên cứu sâu hơn.

Từ khóa: EGFR, HER2, Docking phân tử, Hy thiêm, *Siegesbeckia orientalis* L.

1. Mở đầu

Hiện nay, ung thư đang là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới. Theo ước tính của cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (GLOBOCAN) có khoảng 19,3 triệu trường hợp ung thư mới và gần 10 triệu trường hợp tử vong do ung thư vào năm 2020 trên toàn thế giới. Trong đó, phổ biến nhất là ung thư vú với ước tính có khoảng 2,3 triệu ca mới (11,7%) và ung thư phổi (11,4%) [1]. Tại Việt Nam, tình hình mắc mới và tử vong do ung thư đều đang tăng

nhANH. Năm 2020, Việt Nam xếp thứ 91/185 về tỷ suất mắc mới và thứ 50/185 về tỷ suất tử vong trên 100.000 người. Mặc dù các liệu pháp điều trị ung thư ngày nay đã phát triển nhanh chóng với hiệu quả cao và ít độc tính hơn nhưng ung thư vẫn đang là vấn đề cần được nghiên cứu khẩn cấp.

Thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR - Epidermal growth factor receptor) và thụ thể yếu tố phát triển biểu mô 2 (HER2 - Human epithelium receptor 2) là những thụ thể protein xuyên màng [2]. EGFR tham gia quá trình tự phosphoryl hóa, kích hoạt một loạt các con

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tungbt.ump@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4398>

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 [3]. HER2 là thụ thể có liên quan đến con đường dẫn truyền tín hiệu điều chỉnh sự phát triển và biệt hóa của tế bào. Sự biểu hiện quá mức của HER2 liên quan đến nhiều bệnh ung thư, đặc biệt là ung thư vú [4]. Việc kích hoạt chức năng của các thụ thể EGFR và HER2 xảy ra ở hầu hết các bệnh ung thư tế bào biểu mô, đặc biệt là ung thư phổi không tế bào nhỏ và ung thư vú, do đó hai thụ thể này là mục tiêu quan trọng trong điều trị ung thư.

Hy thiêm, tên khoa học là *Siegesbeckia orientalis* L., thuộc họ Cúc, được dân gian dùng để điều trị rắn cắn, viêm khớp thấp khớp, dị ứng, miễn dịch và các bệnh viêm nhiễm [5]. Theo nghiên cứu trước đây, các hợp chất ursolic acid và quercetin trong cây Hy thiêm thể hiện hoạt tính gây độc nhiều dòng tế bào ung thư [6].

Docking phân tử là một kỹ thuật mô hình hóa giúp dự đoán vị trí và cấu hình thuận lợi mà phân tử cơ chất (phối tử) có thể liên kết với phân tử protein (đích). Ưu điểm của phương pháp này là tiết kiệm thời gian và giảm chi phí hơn so với các phương pháp thực nghiệm khác để sàng lọc các hợp chất tiềm năng [7]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp docking phân tử để tìm kiếm các hợp chất trong cây Hy thiêm có tác dụng ức chế thụ thể EGFR và HER2.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Mô hình docking

Chuẩn bị cấu trúc protein: cấu trúc của thụ thể EGFR (PDB ID: 1M17) và HER2 (PDB ID: 3PP0) được lấy từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB (<https://www.rcsb.org/>). Tiến hành loại bỏ phân tử đồng kết tinh và các phân tử nước bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Sau đó, các nguyên tử hydro sẽ được thêm 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 EGFR được lựa chọn bởi một hộp lưới có kích thước 40Å×40Å×40Å (tọa độ trục x = 22,01; y = 0,25; z = 52,79) và của protein HER2 là 30Å×30Å×30Å (tọa độ trục x = 34; y = 46; z = -12). Sau đó, protein được lưu dưới dạng pdbqt. Việc lựa chọn các chỉ số của hộp lưới dựa trên tham khảo một số bài báo đã được công bố trước đây [8, 9].

Chuẩn bị cấu trúc phối tử: từ các công bố trước đây về thành phần hóa học của cây Hy thiêm, chúng tôi đã thu thập được 50 hợp chất tự nhiên và tổng hợp hóa học có trong cây Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L.) [6, 10-21]. Cấu trúc 3D của những phân tử này 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

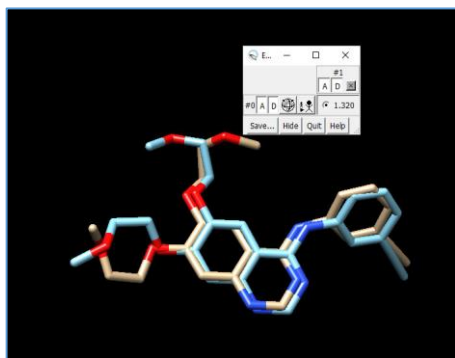
Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử đồng tinh thể sau khi được tách ra khỏi protein sẽ được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu. Kết quả quá trình docking được gọi là đáng tin cậy nếu giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) nhỏ hơn 1,5 Å. Đối với các chất cần docking, khả 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

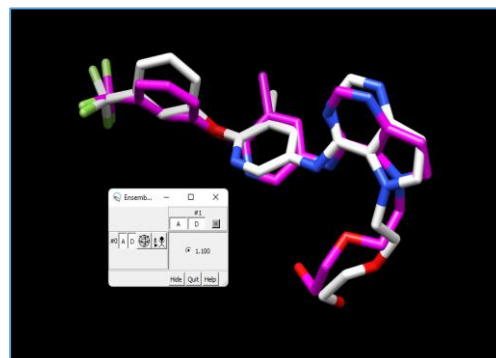
Quy tắc Lipinski 5 tiêu chí được sử dụng để so sánh giữa các hợp chất có đặc tính giống thuốc và không giống thuốc. Để đánh giá quy tắc Lipinski 5, chúng tôi sử dụng công cụ online (<http://www.scfbi-oiitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>) và thông qua các tiêu chí: trọng lượng

phân tử, số nhóm cho/nhận liên kết hydro, logP và độ khúc xạ MR. Cấu trúc hóa học của các

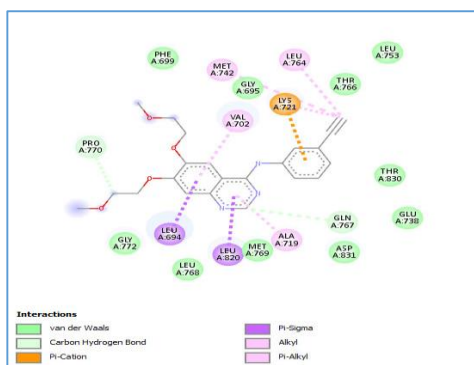
hợp chất được tải từ cơ sở dữ liệu Pubchem (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).



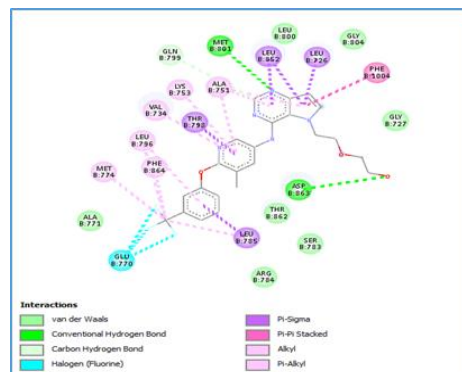
Hình 1. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh của EGFR.



Hình 2. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh của HER2.



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



Hình 4. Tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với HER2.

2.4. Dự đoán các thông số dược động học

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

3. Kết quả

3.1. Đánh giá mô hình docking

Trước khi tiến hành sàng lọc các hợp chất, phối tử đồng tinh thể được re-dock lại vào vị trí hoạt động của protein bằng phần mềm Chimera

và chúng tôi đã xác định độ lệch bình phương trung bình góc (RMSD) của EGFR là $1,32\text{Å} < 1,5\text{Å}$ (Hình 1), HER2 là $1,1\text{Å} < 1,5\text{Å}$ (Hình 2), chứng tỏ quá trình docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy. Chúng tôi sử dụng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0 để biểu diễn sự tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với EGFR (Hình 3) và HER2 (Hình 4).

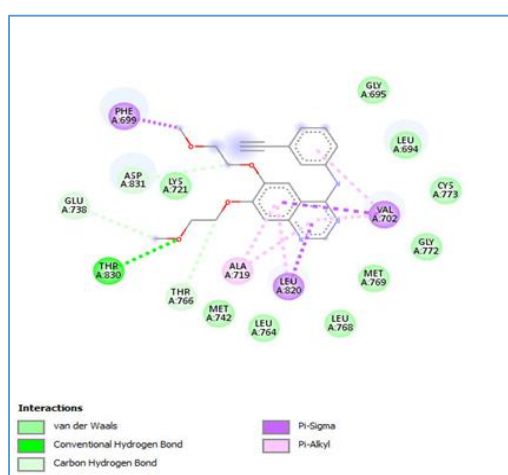
3.2. Kết quả quá trình docking các hợp chất với protein mục tiêu

Sau khi chuẩn bị phối tử, chúng tôi tiến hành docking 50 hợp chất từ cây Hy thiêm để sàng lọc hoạt động ức chế trên cả 2 đích EGFR và HER2. Kết quả thu được ở Bảng 1 như sau:

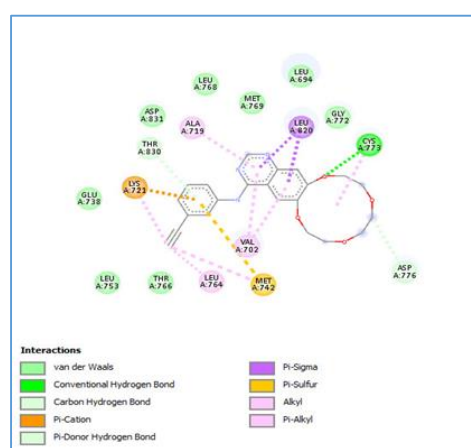
Bảng 1. Kết quả docking 50 hợp chất và chất chứng dương với thụ thể EGFR và HER2

STT	Hợp chất	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	
		EGFR	HER2
1	Siegesmethyletheric acid (461510698)	-9,7	-9,5
2	Quercetin (5280343)	-8,9	-9,1
3	Ursolic acid (64945)	-9,6	-9,2
4	β -sitosterol (222284)	-8,4	-9,9
5	Stigmasterol (5280794)	-8,9	-9,9
6	Uracil (1174)	-4,8	-5,3
7	Kirenol (15736732)	-8,4	-8,2
8	16-O-Acetyldarutigenol (44607100)	-8,6	-8,9
9	15,16-Di-O-acetyldarutoside (44607101)	-8,8	-7,7
10	16-O-Acetyldarutoside (102080494)	-9,2	-8,6
11	Darutigenol (3037565)	-8,4	-8,6
12	Darutoside (44715524)	-9,0	-8,1
13	Hythiemoside A (44607102)	-9,2	-8,4
14	Berlandin (101306929)	-9,1	-8,1
15	Zoapatanolide B (5458914)	-7,9	-7,3
16	Oleanolic acid (10494)	-9,3	-8,3
17	Apigenin (5280443)	-8,9	-8,9
18	Chlorogenic acid (1794427)	-7,9	-8,6
19	Betulinic acid (64971)	-8,5	-7,5
20	Caffeic acid (689043)	-6,3	-7,0
21	3-CQA (89360385)	-7,7	-8,8
22	4-CQA (9798666)	-8,3	-9,3
23	Quercitrin (5280459)	-9,6	-8,8
24	Kaempferol-3-O-rhamnoside (5835713)	-8,9	-8,7
25	Rutin (5280805)	-10,0	-9,6
26	Kaempferol-3-O-rutinoside (5318767)	-9,9	-10,2
27	Orientalide (98050571)	-7,0	-6,7
28	Aurantiamide acetate (124319)	-8,7	-9,4
29	Hythiemoside B (11203296)	-8,6	-8,8
30	7 β -hydroxydarutigenol (44606934)	-7,6	-7,5
31	Syringic acid (10742)	-5,7	-5,6
32	9 β -hydroxydarutigenol (44606935)	-7,8	-7,9
33	Lecocarpinolide B (101630355)	-7,0	-6,8
34	Daucosterol (5742590)	-9,6	-9,8
35	Geranylnerol (70359001)	-6,3	-8,5
36	Retusin (5352005)	-8,0	-7,6
37	2,5-Dimethoxy-p-cymene (6427071)	-5,7	-6,1
38	Afzelin (5316673)	-9,6	-8,4
39	Santamarine (188297)	-7,9	-8,3
40	Costunolid (5281437)	-7,2	-7,7
41	Phytol (5280435)	-5,3	-6,9
42	p-coumaric acid (1549106)	-5,8	-6,3
43	Luteolin (5280445)	-8,8	-9,2

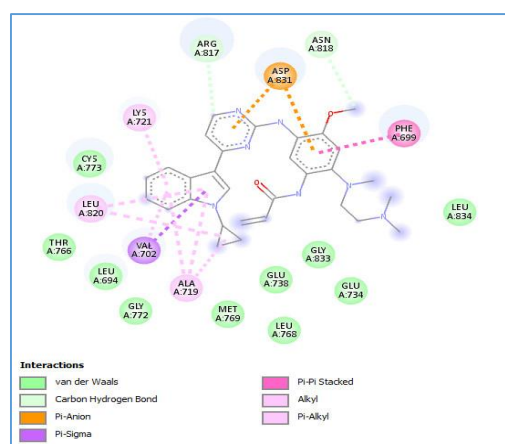
44	Gallic acid (370)	-6,0	-7,1
45	Vanillic acid (8468)	-6,5	-6,4
46	m-coumaric acid (637541)	-6,1	-6,9
47	Syringaldehyde (8655)	-5,5	-5,7
48	Cinnamic acid (444539)	-5,6	-6,7
49	3,5-dicaffeoylquinic acid (146160109)	-8,8	-10,6
50	3,4-dicaffeoylquinic acid (5281780)	-8,9	-9,1
51	Erlotinib (R1)	-7,6	
52	Icotinib (R2)	-9,3	
53	Almonertinib (R3)	-8,6	
54	Olmutinib (R4)	-9,6	
55	Neratinib		-9,8



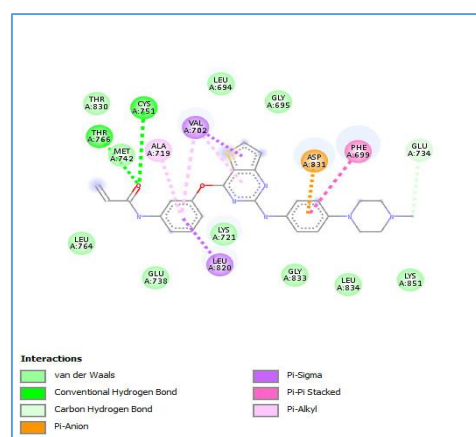
R1



R2

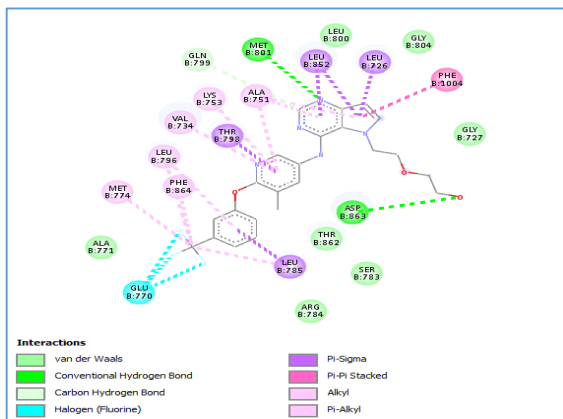


R3



R4

Hình 5. Tương tác giữa erlotinib (R1), icotinib (R2), almonertinib (R3) và olmutinib (R4) với EGFR.

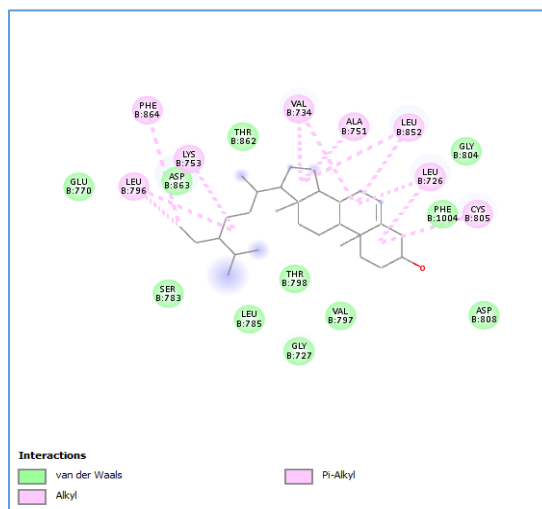
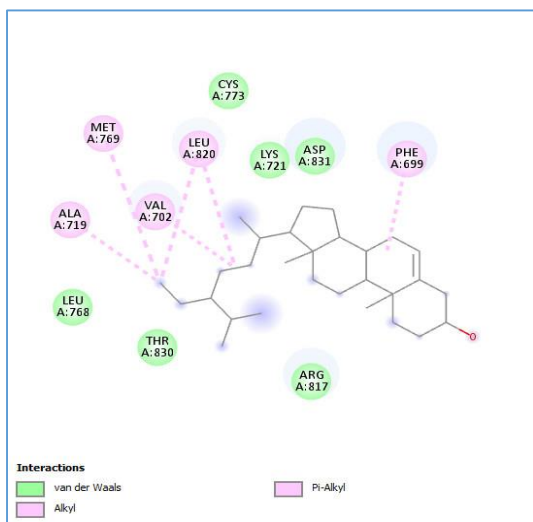


Hình 6. Tương tác giữa neratinib với HER2.

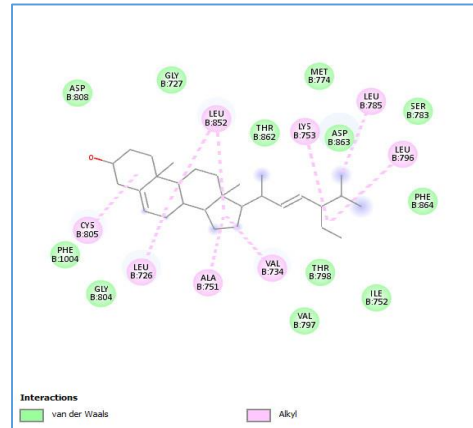
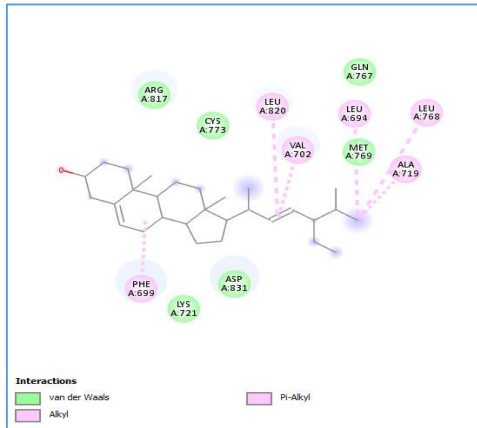
Erlotinib ($IC_{50} = 2 \text{ nM}$) và icotinib ($IC_{50} = 5 \text{ nM}$) là những chất ức chế EGFR mạnh và chọn lọc đã được phê duyệt để điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ [22-24]. Almonertinib là EGFR-TKI thế hệ thứ ba đã được chứng minh vào năm 2020 tại Trung Quốc cho ung thư phổi không tế bào nhỏ dương tính với đột biến gen EGFR T790M. Almonertinib cho thấy các hoạt động ức chế chống lại một số EGFR đột biến cao hơn so với EGFR kiểu hoang dã [25, 26]. Olmutinib được FDA (Cục quản lý Thực phẩm

và Dược phẩm Hoa Kỳ) cấp chỉ định điều trị đột phá trong ung thư phổi không tế bào nhỏ và cũng là chất được chấp thuận để điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ dương tính với đột biến gen EGFR T790M tiến triển ở Hàn Quốc [27]. Nó hoạt động như một chất ức chế không hồi phục của EGFR thông qua việc hình thành một liên kết cộng hóa trị với cysteine (CYS797) trong kinase. Thử nghiệm ức chế kinase của olmutinib cho thấy hoạt động ức chế ở giá trị IC_{50} là $0,01 \mu\text{M}$ đối với EGFR (790M / L858R) [28].

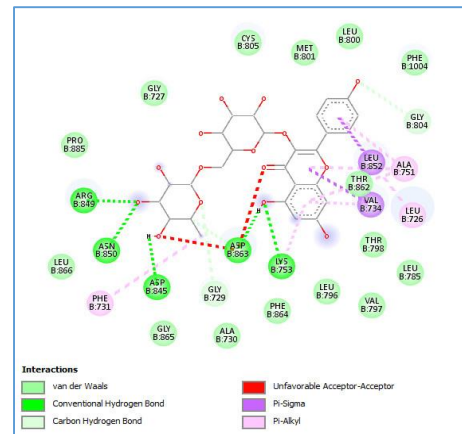
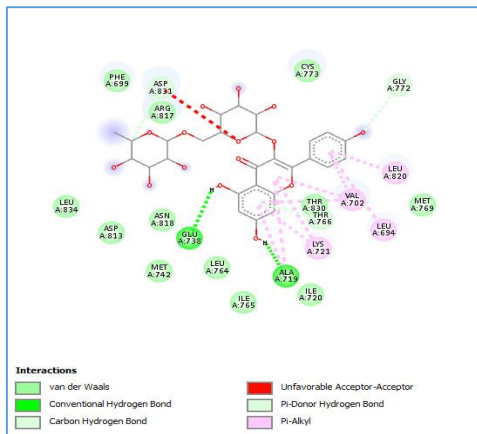
Neratinib là thuốc chống ung thư, đã được FDA phê duyệt trong điều trị ung thư vú dương tính HER2 [29]. Neratinib có năng lượng liên kết là $-9,8 \text{ (kcal/mol)}$ với đích HER2 và thể hiện liên kết với những protein quan trọng như LYS753, VAL734, ALA751, GLN799, MET801, LEU852, LEU726, PHE1004, ASP863, GLU770, MET774, LEU785, LEU796. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi so sánh năng lượng gắn kết của các hợp chất tiềm năng với các chất chứng dương (erlotinib, icotinib, almonertinib, olmutinib, neratinib) để đánh giá khả năng ức chế EGFR và HER2 của chúng. Tương tác giữa các chất chứng dương với 2 đích EGFR và HER2 được thể hiện tương ứng ở Hình 5 và Hình 6.



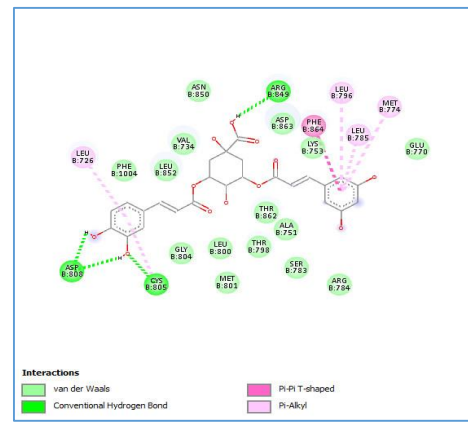
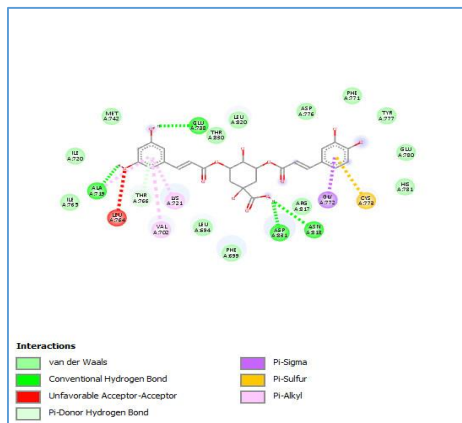
β -sitosterol



stigmasterol



kaempferol-3-O-rutinoside



3,5-dicaffeoylquinic acid

Hình 7. Biểu diễn sự tương tác của β -sitosterol, stigmasterol, kaempferol-3-O-rutinoside và 3,5-dicaffeoylquinic acid với đích EGFR (trái) và HER2 (phải).

Từ Bảng 1 ta thấy 4 hợp chất có năng lượng liên kết thấp hơn neratinib (-9,8 kcal/mol) bao gồm β -sitosterol (-9,9 kcal/mol), stigmasterol (-9,9 kcal/mol), kaempferol-3-O-rutinoside (-10,2 kcal/mol) và 3,5-dicaffeoylquinic acid (-10,6 kcal/mol). Hơn nữa, 4 hợp chất này còn thể hiện khả năng ức chế thụ thể EGFR thông qua việc liên kết với năng lượng khá thấp cụ thể là β -sitosterol (-8,4 kcal/mol), stigmasterol (-8,9 kcal/mol), kaempferol-3-O-rutinoside (-9,9 kcal/mol) và 3,5-dicaffeoylquinic acid (-8,8 kcal/mol). Tương tác phối tử - amino acid giữa các hợp chất với thụ thể EGFR và HER2 (Hình 7) cho thấy chủ yếu là tương tác qua liên kết π và liên kết hydro.

Bảng 2 thể hiện sự tương tác của 4 hợp chất tiềm năng khi liên kết với EGFR và HER2. So sánh tương tác của 4 hợp chất này và các 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 VAL702, ALA719, PHE699, ASP831. Đối với đích HER2, 3,5-dicaffeoylquinic acid có năng lượng liên kết thấp nhất trong 4 chất trên (-10,6 kcal/mol). Chất này cho thấy sự tương tác tương tự với chứng dương neratinib do liên kết với các acid amin MET774, LEU785, LEU796. β -sitosterol, stigmasterol và kaempferol-3-O-rutinoside cũng có năng lượng liên kết khá thấp với thụ thể này qua những amino acid tương tự như: LYS753, VAL734, ALA751, LEU852.

Bảng 2. Các amino acid của 4 hợp chất tiềm năng liên kết với thụ thể EGFR và HER2 trong vùng hoạt động tương ứng

STT	Tên	Amino acid liên kết với đích EGFR	Amino acid liên kết với đích HER2
1	β -sitosterol	ALA719, MET769, VAL702, LEU820, PHE699	LEU796, PHE864, LYS753, VAL734, ALA751, LEU852, LEU726, CYS805
2	Stigmasterol	PHE699, LEU820, VAL702, LEU694, LEU768, ALA719	CYS805, LEU726, ALA751, VAL734, LEU796, LEU785, LYS753, LEU852
3	Kaempferol-3-O-rutinoside	ASP831, GLY772, LEU820, VAL702, LEU694, LYS721, THR766, ALA719, GLU738	ARG849, ASN850, ASP845, PHE731, GLY729, ASP863, LYS753, VAL734, LEU726, ALA751, LEU852, GLY804
4	3,5-dicaffeoylquinic acid	ALA719, LEU764, THR766, LYS721, VAL702, GLU738, ASP831, ASN818, GLY772, CYS773	ASP808, CYS805, LEU726, ARG849, PHE864, LEU796, LEU785, MET774

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

STT	Hợp chất	Phân tử khối	Nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	logP	Độ khúc xạ mol (MR)	Hợp chất giống thuốc
1	3,5-dicaffeoylquinic acid (146160109)	516,0	7	12	1,03	125,2	Không
2	Kaempferol-3-O-rutinoside (5318767)	594,0	9	15	-1,58	135,83	Không
3	β -Sitosterol (222284)	414,0	1	1	8,025	128,22	Có
4	Stigmasterol (5280794)	412,0	1	1	7,8	128,12	Có

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 < 500 Da; có tính ưa dầu cao (logP nhỏ hơn 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.

Từ kết quả Bảng 3 cho thấy, có 2 hợp chất thoả mãn nhiều hơn 2 tiêu chí, đó là β -Sitosterol và stigmasterol. Tiếp theo, 2 hợp chất này tiếp tục được đánh giá các đặc tính về dược động học - độc tính bằng dự đoán ADMET.

3.4. Đánh giá ADMET

Bảng 4. Kết quả đánh giá ADMET

Thông số	β -sitosterol	Stigmasterol
Hấp thu		
Tan trong nước (log mol/L)	-6,773	-6,682
Tính thấm màng Caco2 (log P_{app} trong 10^{-6} cm/s)	1,201	1,213
Hấp thu ở ruột (%)	94,464	94,97
Phân bố		
Thể tích phân bố (log L/kg)	0,193	0,178
Tính thấm BBB (log BBB)	0,781	0,771
Chuyển hóa		
Cơ chất CYP2D6	Không	Không
Cơ chất CYP3A4	Có	Có
Ức chế CYP2D6	Không	Không
Ức chế CYP3A4	Không	Không
Thải trừ		
Độ thanh thải toàn phần (log ml/min/kg)	0,628	0,618
Độc tính	Không	Không
Độc tính AMES	Không	Không
Độc tính gan	Không	Không

Để đánh giá hiệu quả của hai chất trên, chúng tôi tiếp tục đánh giá thông số dược động học và độc tính (ADMET) thông qua việc sử dụng

pkCSM. Bảng 4 là kết quả dự đoán ADMET của β -sitosterol và stigmasterol.

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. Kết quả từ bảng 3 cho thấy, cả hai chất trên đều có giá trị lớn hơn 0,9, chứng minh khả năng thấm qua màng tốt. Bên cạnh đó, khả năng hấp thu ở ruột người (HIB) của hai chất này khá tốt do HIB lớn hơn 30%. Về phân bố, giá trị logBBB lớn hơn 0,3 được cho là có khả năng hấp thu tốt qua hàng rào máu não. Kết quả cho thấy, logBBB lớn hơn 0,3 nên cả hai chất β -sitosterol và stigmasterol đều có khả năng qua hàng rào máu não. 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. Đây là 2 isoform chính của họ CYP tham gia chuyển hóa phần lớn các thuốc, đặc biệt là CYP3A4. Ở đây, cả hai hợp chất trên đều là cơ chất của CYP3A4, cho thấy nó có thể bị chuyển hóa ở gan. Về thải trừ, hợp chất β -sitosterol và stigmasterol có khả năng thải trừ qua thận với độ thanh thải toàn phần (log ml/min/kg) lần lượt là 0,628 và 0,618. Về độc tính, phần mềm ADMET xác định dựa vào cấu trúc hóa học của 531 chất và đưa ra dự đoán rằng cả hai chất này không có độc tính trên gan. Ngoài ra, thử nghiệm ADMET là một phương pháp được sử dụng rộng rãi, dùng để phân tích xem một chất có thể gây ra đột biến trong DNA hay không, và kết quả cho thấy cả β -sitosterol và stigmasterol đều không gây hiện tượng này.

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện đánh giá khả năng ức chế của 50 hợp chất trong cây Hy thêm với cả 2 đích phân tử HER2 và EGFR. Sau khi thực hiện docking phân tử, chúng tôi thu được 2 hợp chất thể hiện khả năng ức chế cao 2 đích trên, có năng lượng liên kết thấp hơn hợp chất đồng kết tinh và có đặc tính giống thuốc, đó là β -sitosterol và stigmasterol.

Hợp chất β -sitosterol là một sterol thực vật có cấu trúc tương tự cholesterol. Trong bài nghiên cứu này, β -sitosterol thể hiện khả năng ức chế cả hai thụ thể EGFR và HER2 với năng lượng liên kết lần lượt là -8,4 và -9,9 kcal/mol qua việc liên kết với các acid amin tương tự như các chất chướng dương. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng β -sitosterol ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư được nuôi cấy khác nhau thông qua các cơ chế như kích hoạt chu trình sphingomyelin [30, 31], ức chế chu kỳ tế bào [31, 32] và kích thích chu trình apoptosis của tế bào [33, 34]. Chế độ ăn có chứa β -sitosterol cũng đóng một vai trò quan trọng trong cả việc phòng ngừa và điều trị ung thư vú [35, 36]. Đặc biệt, nghiên cứu gần đây trên tế bào MCF-7 và tế bào MDA-MB231 đã chứng minh sự kết hợp của β -sitosterol và tamoxifen (một thuốc điều biến chọn lọc thụ thể estrogen) có thể ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vú hiệu quả hơn khi dùng tamoxifen đơn độc [37]. β -sitosterol cũng cho thấy tiềm năng trong điều trị ung thư phổi qua việc ức chế sự phát triển của tế bào biểu mô đáy phế nang ở người có tế bào tuyến A549 lên đến 13% trong 72 giờ [38]. Ngoài đặc tính chống ung thư, β -sitosterol cũng được nghiên cứu có các tác dụng ức chế tăng cholesterol máu, chống viêm, kháng khuẩn và kháng nấm [39].

Hợp chất stigmasterol là một sterol thực vật nổi bật bởi khả năng chống lại các dòng tế bào ung thư theo các cơ chế khác nhau như ức chế sự phát triển của tế bào khối u [40], ức chế tăng sinh mạch và kìm hãm sự phát triển của ung thư đường mật [41], kích hoạt tế bào ung thư chết theo chương trình [42-46]. Đặc biệt, theo nghiên cứu gần đây của Huang Zhao và cộng sự (2021), stigmasterol được chứng minh là kích hoạt quá trình chết theo chương trình thông qua việc ức chế con đường truyền tín hiệu Akt/mTOR ở tế bào ung thư dạ dày *in vitro* và ức chế sự phát triển của tế bào *in vivo* [47].

5. Kết luận

Từ kết quả sàng lọc 50 chất từ cây Hy thiêm, chúng tôi đã tìm ra 4 hợp chất tiềm năng có khả năng ức chế đồng thời hai đích EGFR và HER2.

Trong đó có 2 hợp chất bao gồm β -sitosterol và stigmasterol có năng lượng liên kết âm nhất, có đặc tính giống thuốc khi thỏa mãn tiêu chuẩn Lipinski và dự đoán ADMET cho thấy khả năng hấp thu tốt, ít bị chuyển hóa ở gan, thải trừ qua thận. 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 chống ung thư.

Tài liệu tham khảo

- [1] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal et al., Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185, CA: A Cancer Journal for Clinicians, Vol. 71, No. 3, 2021, pp. 209-249.
- [2] A. Friedlaender, V. Subbiah, A. Russo, G. L. Banna, U. Malapelle, C. Rolfo et al., EGFR and HER2 Exon 20 Insertions in Solid Tumours: from Biology to Treatment, Nature Reviews Clinical Oncology, Vol. 19, No. 1, 2022, pp. 51-69.
- [3] F. Ciardiello, G. Tortora. EGFR Antagonists in Cancer Treatment, New England Journal of Medicine, Vol. 358, No. 11, 2008, pp. 1160-1174.
- [4] Y. Yarden, Biology of HER2 and Its Importance in Breast Cancer, Oncology, Vol. 61, No. (Suppl. 2), 2001, pp. 1-13.
- [5] C. C. Chang, H. F. Hsu, K. H. Huang, J. M. Wu, S. M. Kuo, X. H. Ling et al., Anti-Proliferative Effects of Siegesbeckia Orientalis Ethanol Extract on Human Endometrial RL-95 Cancer Cells, Molecules, Vol. 19, No. 12, 2014, pp. 19980-19994.
- [6] Y. Yang, H. Chen, J. Lei, J. Yu, Biological Activity of Extracts and Active Compounds Isolated from Siegesbeckia Orientalis, Industrial Crops and Products, Vol. 94, 2016, pp. 288-293.
- [7] J. Fan, A. Fu, L. Zhang, Progress in Molecular Docking, Quantitative Biology, Vol. 7, No. 2, 2019, pp. 83-89.
- [8] F. A. Almalki, A. M. Shawky, A. N. Abdalla, A. M. Gouda, Icotinib, Almonertinib, and Olmutinib: A 2D Similarity/Docking-Based Study to Predict The Potential Binding Modes and Interactions Into, Molecules, Vol. 26, No. 21, 2021, pp. 1-16.
- [9] B. K. Nguyen et al., Screening Bioactive Compounds from Allium Sativum as HER2 Inhibitors Targeting Breast Cancer by Docking Methods, VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, Vol. 37, No. 1, 2021, pp. 35-47 (in Vietnamese).

- [10] L. L. Wang, L. H. Hu, Chemical Constituents of *Siegesbeckia Orientalis* L., *Journal of Integrative Plant Biology*, Vol. 48, No. 8, 2006, pp. 991-995.
- [11] F. Wang, X. L. Cheng, Y. J. Li, S. Shi, J. K. Liu, Ent-Pimarane Diterpenoids from *Siegesbeckia Orientalis* and Structure Revision of A Related Compound, *Journal of Natural Products*, Vol. 72, No. 11, 2009, pp. 2005-2008.
- [12] P.M. Giang, P.T. Son, H. Otsuka, Ent-Pimarane-Type Diterpenoids from *Siegesbeckia Orientalis* L., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 53, No.2, 2005, pp. 232-234.
- [13] D. T. T. Hang, D.T. Dung, D. T. H. Yen, N. H. Hoang, N. A. Bang, N. T. Cuc et al., Guaianolide Sesquiterpenes and Benzoate Esters from The Aerial Parts of *Siegesbeckia Orientalis* L. and Their Xanthine Oxidase Inhibitory, *Phytochemistry*, Vol. 190, 2021, pp. 1-8.
- [14] S. K. Pradhan, R. C. Gupta, R. K. Goel, Differential Content of Secondary Metabolites in Diploid and Tetraploid Cytotypes of *Siegesbeckia Orientalis* L., *Natural Product Research*, Vol. 32, No. 20, 2018, pp. 2476-2482.
- [15] T. D. Nguyen, P. T. Thuong, I. H. Hwang, T. K. H. Hoang, M. K. Nguyen, H. A. Nguyen et al., Anti-Hyperuricemic, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Siegesbeckia Orientalis* L., Resulting from The Fraction with High Phenolic Content, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 17, No. 1, 2017, pp. 1-9.
- [16] N. S. Engels, B. Gierlikowska, B. Waltenberger, F. R. Chang, A. K. Kiss, H. Stuppner, A New Diterpene and Anti-Inflammatory Sesquiterpene Lactones from *Siegesbeckia Orientalis*, *Planta Med*, Vol. 86, No. 15, 2020, pp. 1108-1117.
- [17] J. Xiong, Y. Ma, Y. Xu, The Constituents of *Siegesbeckia Orientalis*, *Natural Product Sciences*, Vol. 3, No. 1, 1997, pp. 14-18.
- [18] C. Zdero, F. Bohlmann, R. King, H. Robinson, Sesquiterpene Lactones and Other Constituents from *Siegesbeckia Orientalis* and *Guizotia Scabra*, *Phytochemistry*, Vol. 30, No.5, 1991, pp. 1579-1584.
- [19] D. Guo, Z. Zhang, G. Ye, Z. Lou, Studies on Liposoluble Constituents from The Aerial Parts of *Siegesbeckia Orientalis*, *Yao xue xue bao= Acta Pharmaceutica Sinica*, Vol. 32, No. 4, 1997, pp. 282-285.
- [20] W. C. Hung, X. H. Ling, C. C. Chang, H. F. Hsu, S. W. Wang, Y. C. Lee et al., Inhibitory Effects of *Siegesbeckia Orientalis* Extracts on Advanced Glycation end Product Formation and Key Enzymes Related to Metabolic Syndrome, *Molecules*, Vol. 22, No.10, 2017, pp. 1-18.
- [21] M. Asif, M. Saleem, S. Yousaf, M. Saadullah, M. Zafar, R. U. Khan et al., Antidiabetic Activity of Aqueous Extract of *Siegesbeckia Orientalis* (St. Paul's Wort) in Alloxan-Induced Diabetes Model, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 55, 2019, pp. 1-10.
- [22] F. Tan, X. Shen, D. Wang, G. Xie, X. Zhang, L. Ding et al., Icotinib (BPI-2009H), A Novel EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor, Displays Potent Efficacy in Preclinical Studies, *Lung Cancer*, Vol. 76, No. 2, 2012, pp. 177-182.
- [23] L. Li, J. Li, M. Khanna, I. Jo, J. P. Baird, S. O. Meroueh, Docking Small Molecules to Predicted Off-Targets of the Cancer Drug Erlotinib Leads to Inhibitors of Lung Cancer Cell Proliferation with Suitable In Vitro Pharmacokinetic Properties, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 1, No. 5, 2010, pp. 229-233.
- [24] M. H. Cohen, J. R. Johnson, Y. F. Chen, R. Sridhara, R. Pazdur, FDA Drug Approval Summary: Erlotinib (Tarceva), *Oncologist*, Vol. 10, No.7, 2005, pp. 461-466.
- [25] C. Zhou, L. Xie, W. Liu, L. Zhang, S. Zhou, L. Wang et al., Absorption, Metabolism, Excretion, and Safety of [(14)C] Almonertinib in Healthy Chinese Subjects, *Annals of Translational Medicine*, Vol. 9, No. 10, 2021, pp. 1-16.
- [26] J. C. Yang, D. R. Camidge, C. T. Yang, J. Zhou, R. Guo, C. H. Chiu et al., Safety, Efficacy, and Pharmacokinetics of Almonertinib (HS-10296) in Pretreated Patients with EGFR-Mutated Advanced NSCLC: A Multicenter, Open-Label, Phase 1 Trial, *Journal of Thoracic Oncology*, Vol. 15, No. 12, 2020, pp. 1907-1918.
- [27] E. S. Kim, Olmutinib: First Global Approval, *Drugs*, Vol. 76, No. 11, 2016, pp. 1153-1157.
- [28] X. Hu, S. Tang, F. Yang, P. Zheng, S. Xu, Q. Pan et al., Design, Synthesis, and Antitumor Activity of Olmutinib Derivatives Containing Acrylamide Moiety, *Molecules*, Vol. 26, No. 10, 2021, pp. 1-14.
- [29] H. Singh, A. J. Walker, L. A. Kordestani, J. Cheng, S. Tang, P. Balcazar et al., U. S. Food and Drug Administration Approval: Neratinib for The Extended Adjuvant Treatment of Early-Stage HER2-Positive Breast Cancer, *Clinical Cancer Research*, Vol. 24, No. 15, 2018, pp. 3486-3491.
- [30] A. B. Awad, M. Chinnam, C. S. Fink, P. G. Bradford, Beta-Sitosterol Activates Fas Signaling in Human Breast Cancer Cells, *Phytomedicine*, Vol. 14, No. 11, 2007, pp. 747-754.
- [31] A. B. Awad, H. Williams, C. S. Fink, Phytosterols Reduce In Vitro Metastatic Ability of MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells, *Nutrition and Cancer*, Vol. 40, No. 2, 2001, pp. 157-164.
- [32] A. B. Awad, A. T. Burr, C. S. Fink, Effect of Resveratrol and Beta-Sitosterol in Combination on Reactive Oxygen Species and Prostaglandin

- Release by PC-3 Cells, Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids, Vol. 72, No. 3, 2005, pp. 219-226.
- [33] Y. H. Choi, K. R. Kong, Y. A. Kim, K. O. Jung, J. H. Kil, S. H. Rhee et al., Induction of Bax and Activation of Caspases During Beta-Sitosterol-Mediated Apoptosis in Human Colon Cancer Cells, *International Journal of Oncology*, Vol. 23, No. 6, 2003, pp. 1657-1662.
- [34] A. B. Awad, R. Roy, C. S. Fink, Beta-Sitosterol, A Plant Sterol, Induces Apoptosis and Activates Key Caspases in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells, *Oncology Reports*, Vol. 10, No. 2, 2003, pp. 497-500.
- [35] S. Sieri, V. Krogh, V. Pala, P. Muti, A. Micheli, A. Evangelista et al., Dietary Patterns and Risk of Breast Cancer in The ORDET Cohort, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention Biomarkers*, Vol. 13, No. 4, 2004, pp. 567-572.
- [36] P. Greenwald, C. K. Clifford, J. A. Milner, Diet and Cancer Prevention, *European Journal of Cancer*, Vol. 37, No. 8, 2001, pp. 948-965.
- [37] A. B. Awad, S. L. Barta, C. S. Fink, P. G. Bradford, Beta-Sitosterol Enhances Tamoxifen Effectiveness on Breast Cancer Cells by Affecting Ceramide Metabolism, *Molecular Nutrition & Food Research*, Vol. 52, No. 4, 2008, pp. 419-426.
- [38] S. S. Vundru, R. K. Kale, R. P. Singh, Beta-Sitosterol Induces G1 Arrest and Causes Depolarization of Mitochondrial Membrane Potential in Breast Carcinoma MDA-MB-231 Cells, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 13, 2013, pp. 1-9.
- [39] W. H. Ling, P. J. Jones, Dietary Phytosterols: A Review of Metabolism, Benefits and Side Effects, *Life Sciences*, Vol. 57, No. 3, 1995, pp. 195-206.
- [40] C. Scholtysek, A. A. Krukiewicz, J. L. Alonso, K. P. Sharma, P. C. Sharma, W. H. Goldmann, Characterizing Components of The Saw Palmetto Berry Extract (SPBE) on Prostate Cancer Cell Growth and Traction, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 379, No. 3, 2009, pp. 795-798.
- [41] T. Kangsamaksin, S. Chaithongyot, C. Wootthichairangsan, R. Hanchaina, C. Tangshewinsirikul, J. Svasti, Lupeol and Stigmasterol Suppress Tumor Angiogenesis and Inhibit Cholangiocarcinoma Growth in Mice Via Downregulation of Tumor Necrosis Factor-Alpha, *PLoS One*, Vol. 12, No. 12, 2017, pp. 1-16.
- [42] Y. S. Kim, X. F. Li, K. H. Kang, B. Ryu, S. K. Kim, Stigmasterol Isolated from Marine Microalgae *Navicula Incerta* Induces Apoptosis in Human Hepatoma HepG2 Cells, *BMB Reports*, Vol. 47, No. 8, 2014, pp. 433-438.
- [43] P. Pandey, P. Bajpai, M. H. Siddiqui, U. Sayyed, R. Tiwari, R. Shekh et al., Elucidation of The Chemopreventive Role of Stigmasterol Against Jab1 in Gall Bladder Carcinoma, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, Vol. 19, No. 6, 2019, pp. 826-837.
- [44] H. Ali, S. Dixit, D. Ali, S.M. Alqahtani, S. Alkahtani, S. Alarifi, Isolation and Evaluation of Anticancer Efficacy of Stigmasterol in a Mouse Model of DMBA-Induced Skin Carcinoma, *Drug Design, Development Therapy*, Vol. 9, 2015, pp. 2793-2800.
- [45] K. Li, D. Yuan, R. Yan, L. Meng, Y. Zhang, K. Zhu, Stigmasterol Exhibits Potent Antitumor Effects in Human Gastric Cancer Cells Mediated Via Inhibition of Cell Migration, Cell Cycle Arrest, Mitochondrial Mediated Apoptosis and Inhibition of JAK/STAT Signalling Pathway, *J BUON*, Vol. 23, No. 5, 2018, pp. 1420-1425.
- [46] H. Bae, G. Song, W. Lim, Stigmasterol Causes Ovarian Cancer Cell Apoptosis by Inducing Endoplasmic Reticulum and Mitochondrial Dysfunction, *Pharmaceutics*, Vol. 12, No. 6, 2020, pp. 1-16.
- [47] H. Zhao, X. Zhang, M. Wang, Y. Lin, S. Zhou, Stigmasterol Simultaneously Induces Apoptosis and Protective Autophagy by Inhibiting Akt/mTOR Pathway in Gastric Cancer Cells, *Frontiers in Oncology*, Vol. 11, 2021, pp. 1-11.