

DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.108

ỨNG DỤNG MÔ HÌNH MÔ PHỎNG DOCKING ĐỂ SO SÁNH TƯƠNG TÁC GIỮA CÁC THUỐC KHÁNG CHOLINERGIC VỚI ENZYME ACETYLCHOLINESTERASE

Nguyễn Hữu Toàn, Huỳnh Như Thảo, Nguyễn Thanh Sĩ, Huỳnh Duy Thiện, Hà Thị Kim Quy, Lê Thị Bạch, Nguyễn Trọng Tuấn, Bùi Thị Bửu Huệ và Trần Quang Đệ*

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Quang Đệ (email: tqde@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/03/2020

Ngày nhận bài sửa: 19/03/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

Title:

Applying docking simulation to compare the interactions of anticholinergic drugs with acetylcholinesterase

Từ khóa:

AutoDock, các chất ức chế acetylcholinesterase, docking phân tử, liên kết hydro, tương tác pi-stacking, tương tác kỵ nước

Keywords:

Acetylcholinesterase inhibitors, AutoDock, hydrogen bond, hydrophobic interaction, molecular docking, pi-stacking

ABSTRACT

In this study, molecular docking using AutoDock was utilized to analyze interactions between several promising drugs (tacrine, rivastigmine, galantamine, and donepezil) and acetylcholinesterase (AChE). The X-ray structure of AChE (PDB: 4EY6) from Protein Data Bank was used for molecular modeling simulation software (AutoDock Vina, AutoGrid4, and AutoDock4). Binding free energies of docking calculations were generated by the automatic docking method of Lamarckian genetic algorithm (LGA). Inhibitory effects of ligands were analyzed by Discovery Studio Visualizer software, which showed important interactions such as hydrogen bond, hydrophobic interaction, pi-stacking interaction between aromatic amino acids and drugs. Based on results obtained from LGA and Discovery Studio Visualizer software, the important interactions between these anticholinergic inhibitors and the active site residues were determined. This study can be further used for the virtual screening approach of house database compounds against Alzheimer's disease.

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, docking phân tử bằng AutoDock được sử dụng để nghiên cứu những tương tác giữa một số loại thuốc (tacrine, rivastigmine, galantamine và donepezil) với enzyme acetylcholinesterase (AChE). Cấu trúc X-ray của AChE (PDB: 4EY6) được lấy từ Protein Data Bank để hỗ trợ các tính toán được chạy trên AutoDock Vina, AutoGrid4 và AutoDock4. Năng lượng tự do của các cấu trúc được xác định bằng việc sử dụng phương pháp docking tự động thuật toán di truyền Lamarckian (LGA). Những tác động ức chế của ligand được phân tích bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer chỉ ra các tương tác quan trọng: liên kết hydrogen, vùng kỵ nước, pi-stacking với hướng hoạt động các amino acid thơm và thuốc. Dựa vào kết quả từ thuật toán LGA và phần mềm Discovery Studio Visualizer, kết quả docking cho thấy cấu trúc các thuốc kháng acetylcholinesterase đều tương tác với vùng hoạt động của enzyme này, định hướng cho việc sàng lọc các thuốc điều trị bệnh Alzheimer.

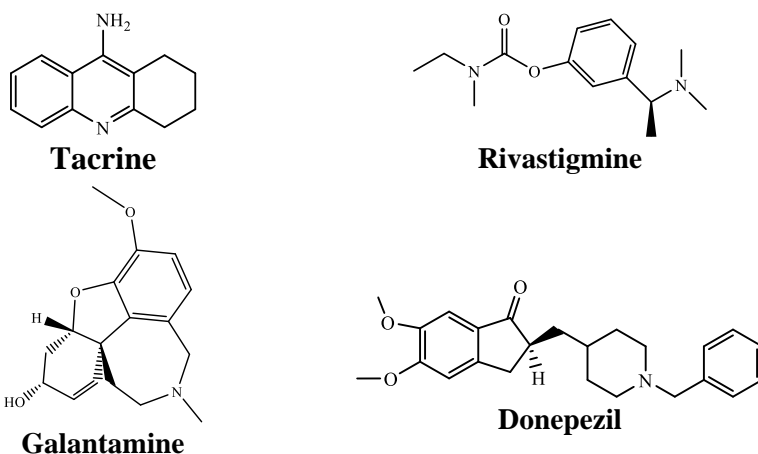
Trích dẫn: Nguyễn Hữu Toàn, Huỳnh Như Thảo, Nguyễn Thanh Sĩ, Huỳnh Duy Thiện, Hà Thị Kim Quy, Lê Thị Bạch, Nguyễn Trọng Tuấn, Bùi Thị Bửu Huệ và Trần Quang Đệ, 2020. Ứng dụng mô hình mô phỏng docking để so sánh tương tác giữa các thuốc kháng cholinergic với enzyme acetylcholinesterase. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 26-32.

1 GIỚI THIỆU

Bệnh Alzheimer là một trong những bệnh gây rối loạn và thoái hóa thần kinh phổ biến. Căn bệnh này đang trở thành thách thức và gánh nặng về kinh tế cho các nước phát triển. Ở Mỹ bệnh Alzheimer là nguyên nhân dẫn đến tử vong được xếp hạng đứng thứ sáu nói chung và đứng thứ ba ở người lớn tuổi, sau bệnh tim và ung thư (Hebert *et al.*, 2013). Acetylcholinesterase (AChE) được giả thuyết là nguyên nhân dẫn đến bệnh Alzheimer, tác động sinh học của AChE là chấm dứt sự dẫn truyền xung thần kinh của hệ cholinergic bằng cách thủy phân acetylcholine (ACh) thành acetate và choline (Dvir *et al.*, 2010). Một giả thuyết khác, sự tiến triển của bệnh có liên quan với các mảng amyloid và rối loạn sợi thần kinh (Serrano-Pozo *et al.*, 2011).

Một số loại thuốc điều trị bệnh Alzheimer thương mại trên thị trường, hoạt chất chính là làm ức chế AChE ngăn quá trình phá vỡ chất dẫn truyền thần kinh ACh. Các vị trí tương tác giữa thuốc

(ligand) trên AChE được xác định tại một rãnh sâu, hẹp, kỵ nước với chiều dài khoảng 20 Å thâm nhập hơn một nửa enzyme và mở rộng ra phía dưới (Sussman *et al.*, 1991; Koellner *et al.*, 2000). Khi so sánh các AChE ở người và phức của enzyme này gắn với thuốc lấy từ Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>), thấy rằng mạng lưới liên kết hydrogen quan trọng đối với sự ổn định của phối tử trong trung tâm hoạt động của AChE (Yan and Wang, 2012). Những tương tác giữa các thuốc với AChE bao gồm: hydrogen, hydrophobic, pi-stacking và pi-ankyl, giúp ích cho dự đoán khả năng ức chế AChE (Atanasova *et al.*, 2015). Hiện nay, tacrine, rivastigmine, galantamine và donepezil là các thuốc có cấu trúc hóa học tương tác tốt trong ức chế AChE (Hình 1). Các nghiên cứu mô hình mô tả phân tử docking của các hợp chất trên với AChE để hiểu rõ về cơ chế ức chế enzyme này đang được quan tâm. Do đó, việc khảo sát mô hình tương tác giữa thuốc với AChE nhằm đưa ra những phân tích để có thể sàng lọc, định hướng tổng hợp và thử nghiệm hiệu quả khả năng ức chế của thuốc.



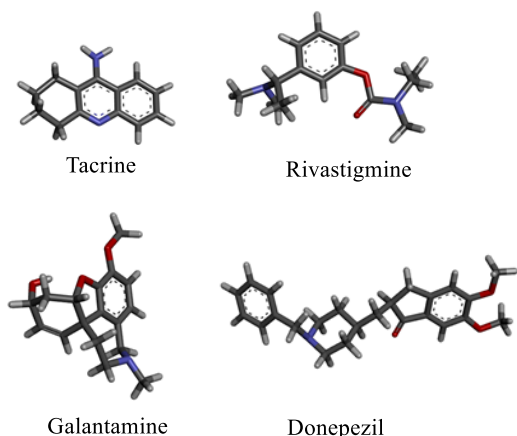
Hình 1: Cấu trúc các thuốc ức chế AChE

Nhằm mục đích mô tả phân tử docking bằng phần mềm AutoDock để so sánh tương tác của các thuốc ức chế AChE, nghiên cứu thực hiện docking với AutoDock Vina để tìm ra vùng tương tác của thuốc (ligand) lên AChE, sau đó docking tự động lại với ligand này ở vùng tương tác tối ưu của AChE sử dụng phương pháp thuật toán di truyền Lamarckian với AutoDock4 (Thien, 2019). Từ đó, phân tích tác động ức chế của ligand thông qua liên kết cho nhận hydrogen, vùng tương tác kỵ nước, tương tác pi-stacking với hướng hoạt động của amino acid thơm của AChE và các tương tác khác.

2 PHƯƠNG PHÁP DOCKING

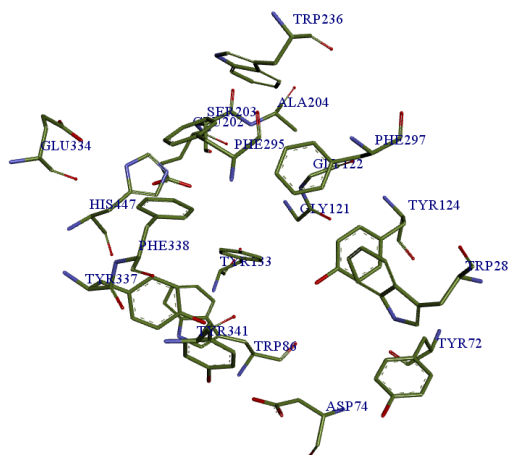
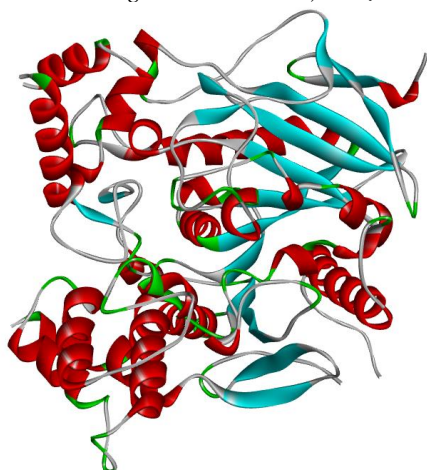
2.1 Cấu trúc ligand và vị trí hoạt động của protein mục tiêu

Cấu trúc hình học của các ligand được tối ưu hóa bằng phương pháp PM6//HF/6-31G(d,p) trong gói chương trình Gaussian 09. Các cấu trúc thu được đều có tần số dao động điều hòa dương chứng tỏ đây là cấu trúc có năng lượng cực tiểu trên bề mặt thế năng (Hình 2).



Hình 2: Cấu trúc tối ưu của các ligand tacrine, rivastigmine, galantamine và donepezil

Cấu trúc X-ray của AChE ở người (mã PDB: 4EY6) lấy từ Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/structure/4EY6>) được dùng



Hình 3: Cấu trúc và một số vị trí hoạt động của AChE (mã PDB: 4EY6) mở bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer

Như vậy, các thuốc tương tác với AChE tạo mạng lưới liên kết hydrogen, liên kết ở vùng kỵ nước rất quan trọng đối với sự ổn định của phức tử gắn kết với AChE. Nghiên cứu tập trung khảo sát mô hình tương tác giữa thuốc với AChE tại tâm hoạt động để đánh giá khả năng ức chế enzyme này.

2.2 Quy trình docking phân tử

Dự đoán các hóc liên kết của ligand lên protein mục tiêu bằng AutoDock Vina để tính toán trước các bản đồ hộp lưới cho từng loại nguyên tử hiện diện trên ligand được docking và xác định hóc liên kết tối ưu giữa ligand với AChE (Bảng 1).

làm protein mục tiêu của ligand. Phân tử protein được loại tinh thể nước, thêm liên kết hydrogen phân cực và tính toán điện tích. Một số vị trí hoạt động được dự đoán của AChE bao gồm: vùng xúc tác, vùng anion, túi acyl, hóc oxyanion và vị trí anion ngoại vi PAS (peripheral anionic site). Vùng xúc tác gồm Ser203, His447 và Glu334 nằm ở đáy. Vùng anion liên kết một nửa với trimethyl ammonium choline bậc 4 của ACh gồm các phần thơm Trp86, Tyr337 và Phe338 có liên quan với những tương tác thêm vào proton đầu (protonated head) của ACh. Túi acyl gồm hai phần dư công kênh là Phe295 và Phe297. Hóc oxyanion là một trong những phân tử chính chứa nước gồm Gly121, Gly122 và Ala204, với nước là cầu nối giữa enzyme với cơ chất bằng liên kết hydrogen và ổn định cơ chất ở trạng thái chuyển tiếp. Vùng còn lại PAS gắn với bề mặt enzyme tiếp. Vùng cửa của rãnh hoạt động (active site gorge) gồm Tyr72, Tyr124, Trp286, Tyr341 và Asp74 (Hình 3) (Atanasova *et al.*, 2015).

Bảng 1: Tham số hộp lưới trên AutoDock Vina

Trung tâm	AChE (4EY6)		
Tọa độ	x	y	z
Kích thước	80	80	80
Spacing = 0.375Å			

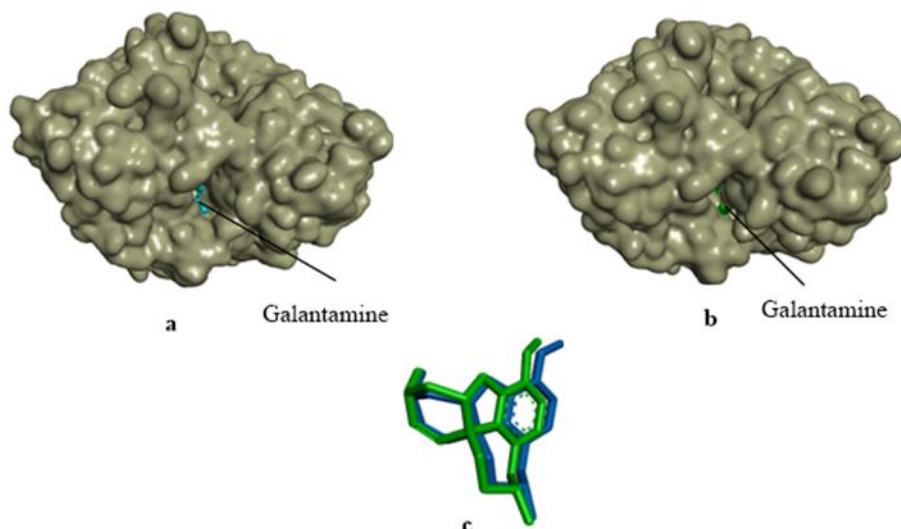
Re-docking ligand được chọn có năng lượng thấp nhất từ bước trên bằng AutoDock. Các tham số hộp lưới được cài đặt lại chứa tất cả các phần dư xung quanh hóc liên kết (Bảng 2). Sử dụng phương pháp thuật toán di truyền Lamarckian để phát hiện không gian hình thành tốt nhất với 100 lần thực hiện docking cho mỗi ligand. Số tối đa đánh giá sự hình thành là 27,000 và 50,000,000 được cài mặc định

trên phần mềm. Khi quá trình docking hoàn thành, các hình dạng của những ligand trong phức với phân tử lớn được sắp xếp theo mức năng lượng liên kết.

Bảng 2: Tham số hộp lưới trên AutoDock 4.2.6 khi Re-docking

Trung tâm	Ligand		
Tọa độ	x	y	z
Kích thước	126	126	126
Spacing = 0.150Å			

Phân tích kết quả docking giữa thuốc và AChE qua liên kết cho nhận hydrogen, vùng tương tác kỵ nước, tương tác pi-stacking với hướng hoạt động các amino acid thơm của AChE và các tương tác khác



Hình 4: (a) Galantamine tương tác 4EY6 (nguồn: <https://www.rcsb.org/structure/4EY6>) (b) Galantamine tương tác 4EY6 docking bằng AutoDock; (c) Cấu trúc 3D xếp chồng của galantamine docking bằng AutoDock (màu xanh lá, trên) so sánh với cấu trúc (màu xanh lam, dưới, nguồn: <https://www.rcsb.org/structure/4EY6>)

Mô hình 3D của mỗi cấu trúc thuốc docking với AChE có đặc điểm chung là vùng tương tác tại một rãnh hẹp, sâu và kỵ nước được mô tả như các nghiên cứu trước đó. Vị trí hoạt động các amino acid của enzyme được xác định. Qua đó, ứng dụng mô phỏng giúp lựa chọn cấu trúc hóa học của thuốc ức chế hiệu quả hơn.

3.2 Liên kết trong tinh thể phức chất của thuốc với AChE

Túi liên kết giữa thuốc với AChE (4EY6) được mô tả bằng phần mềm docking AutoDock Vina, và

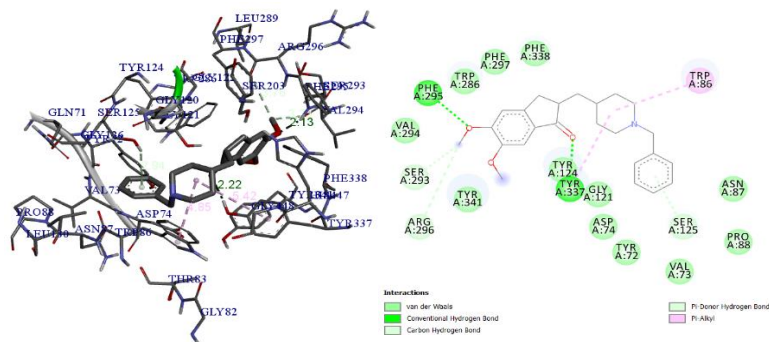
bằng phần mềm AutoDock phiên bản 4.2.6 và Discovery Studio Visualizer.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Mô hình docking thuốc với AChE

Docking phân tử bằng AutoDock cho thấy các ligand đều tương tác vào vị trí hoạt động được dự đoán của AChE (mã PDB: 4EY6). So sánh với mô hình docking phân tử galantamine đã công bố có sự giống nhau về vị trí tương tác và hình dạng giữa ligand với AChE (Hình 4). Kết quả cho thấy, tiềm năng ứng dụng phần mềm AutoDock để nghiên cứu tương tác giữa cấu trúc thuốc với AChE và sàng lọc chất ức chế enzyme này.

re-docking bằng chương trình AutoDock 4.2.6. Sự tương tác tạo liên kết hydrogen cho thấy các thuốc đều gắn với amino acid trong vùng hoạt động của enzyme (Bảng 3). Năng lượng liên kết giữa các thuốc với AChE đều thấp, donepezil liên kết với AChE có năng lượng thấp nhất và tacrine có năng lượng cao nhất, tương ứng với hằng số K_i của donepezil thấp hơn tacrine, rivastigmine và galantamine.



Hình 8: Túi liên kết thể hiện tương tác giữa ligand donepezil với AChE (4EY6)

Cấu trúc thuốc liên kết với enzyme có năng lượng thấp do có nhiều tương tác van der Waals với các amino acid bên cạnh liên kết hydrogen. Trạng thái của ligand gắn kết vào AChE được ổn định khi tạo nhiều tương tác giúp giải phóng năng lượng và đạt cấu hình bền. Điều này chứng tỏ donepezil gắn vào tâm hoạt động của AChE với nhiều tương tác van der Waals nên kết quả docking có năng lượng thấp (Hình 8). Vì vậy, ứng dụng mô hình mô phỏng docking phân tử bằng AutoDock giúp sàng lọc cấu trúc các thuốc ức chế AChE qua phân tích các tương tác với những amino acid ở các vị trí hoạt động của enzyme. Cùng với đó, ligand sau khi docking được so sánh với cấu trúc đã docking bằng chương trình khác tương đối giống nhau về hình dạng và vị trí tương tác với tâm hoạt động của enzyme. Mặc dù có sự hạn chế về sức mạnh máy tính, kết quả của nghiên cứu này khá phù hợp với những công bố trước đây (Atanasova *et al.*, 2015). Điều này sẽ là tiền đề để phát triển tiếp tục hướng nghiên cứu này và trang bị hệ thống máy tính hiệu năng cao trong thời gian tới.

4 KẾT LUẬN

Sự tương tác của các thuốc tacrine, rivastigmine, galantamine, donepezil với tâm hoạt động của AChE (4EY6) được mô phỏng bằng mô hình docking phân tử. Kết quả docking với chương trình AutoDock và phân tích tương tác bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer, cho thấy bản chất các tương tác của thuốc ức chế AChE đều liên quan đến vùng kị nước, liên kết van der Waals và liên kết hydrogen. Đặc biệt donepezil tương tác khá tốt với AChE (4EY6) so với tacrine, rivastigmine và galantamine. Qua đó, mô hình docking phân tử này sẽ được ứng dụng rộng rãi hơn nhằm sàng lọc và thiết kế các chất mới ức chế AChE góp phần điều trị bệnh Alzheimer.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hebert, L. E., Weuve, J., Scherr, P. A. and Evans, D. A., 2013. Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*, 80(19): 1778-1783.

Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T. L. and Sussman, J. L., 2010. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. *Chemico-Biological Interactions*, 187(1-3): 10-22.

Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E. and Hyman, B. T., 2011. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1): 1-23.

Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., *et al.* 1991. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253 (5022): 872-879.

Koellner, G., Kryger, G., Millard, C. B., Silman, I., Sussman, J. L. and Steiner, T., 2000. Active-site gorge and buried water molecules in crystal structures of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*. *Journal of Molecular Biology*, 296(2): 713-735.

Yan, A. and Wang, K., 2012. Quantitative structure and bioactivity relationship study on human acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(9): 3336-3342.

Atanasova, M., Yordanov, N., Dimitrov, I., Berkov, S. and Doytchinova, I., 2015. Molecular docking study on galantamine derivatives as cholinesterase inhibitors. *Molecular Informatics*, 34(6-7): 394-403.

Thien, H. D., 2019. Molecular docking studies of synthesized benzimidazole derivatives as Hepatitis C virus NS5B inhibitors. Master thesis. Can Tho University. Can Tho City.

Cosconati, S., Forli, S., Perryman, A. L., Harris, R., Goodsell, D. S. and Olson, A. J., 2010. Virtual screening with AutoDock: theory and practice. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 5(6): 597-607.

- Jaghoori, M. M., Bleijlevens, B. and Olabarriaga, S. D., 2016. 1001 Ways to run AutoDock Vina for virtual screening. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 30(3): 237-249.
- Jang, C., Yadav, D. K., Subedi, L., *et al.* 2018. Identification of novel acetylcholinesterase inhibitors designed by pharmacophore-based virtual screening, molecular docking and bioassay. *Scientific Reports*, 8(1): 14921.
- Morris, G. M., Huey, R. and Olson, A. J., 2008. Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Current Protocols in Bioinformatics*, 24(1): 1-40.
- Najafi, Z., Mahdavi, M., Saeedi, M., Karimpour-Razkenari, E., Asatouri, R., Vafadarnejad, F., Moghadam, F. H., Khanavi, M., Sharifzadeh, M. and Akbarzadeh, T., 2017. Novel tacrine-1,2,3-triazole hybrids: In vitro, in vivo biological evaluation and docking study of cholinesterase inhibitors. *European Journal Medicinal Chemistry*, 125: 1200-1212.
- Nguyễn Thị Cẩm Vi, 2018. Thiết kế, tổng hợp và đánh giá tác động kháng Acetylcholinesterase của một số dẫn chất Chalcone nhằm sàng lọc thuốc mới hướng điều trị bệnh Alzheimer. Luận án Tiến sĩ. Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
- Rudnitskaya, A., Torok, B. and Torok, M., 2010. Molecular docking of enzyme inhibitors: A computational tool for structure based drug design. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 38(4): 261-265.
- Suganthy, N., Aly, H. F., Gunnarsson, L.-G., Oboh, G., Muthusamy, K. and Belkhef, M., 2018. Alzheimer's Disease & Treatment, Vol. 1. Suganthy N Department of Nanoscience and Technology, Science Campus, Alagappa University, Karaikudi, India, 125 pages.