

DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.105

THIẾT KẾ, TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ ENZYME HISTONE DEACETYLASE (HDAC) *in silico* CỦA MỘT SỐ DẪN XUẤT TƯƠNG TỰ BELINOSTAT

Nguyễn Cường Quốc, Huỳnh Như Thảo, Nguyễn Thị Huỳnh Trang, Đặng Thị Thu Thảo, Huỳnh Thanh Ngân, Trần Nguyễn Gia Huy, Nguyễn Hồng Thi, Võ Thị Như Ý, 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: 20/04/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

Title:

Design, synthesis and evaluation of belinostat analogues targeting histone deacetylase (HDAC) enzymes *in silico*

Từ khóa:

Belinostat, histone deacetylase, hydroxamate, *in silico*

Keywords:

Belinostat, histone deacetylase, hydroxamate, *in silico*

ABSTRACT

Belinostat is a histone deacetylase inhibitor for the treatment of hematological malignancies and solid tumor. In this study, belinostat analogues were successfully synthesized through a simple and effective process suited to laboratory scale in Vietnam including 6 steps: i) Preparation of *m*-nitrobenzaldehyde using KNO_3/H_2SO_4 ; ii) Use of Wittig reaction with ylide compound as the nucleophile; iii) Reduction of $-NO_2$ group. iv) Preparation of sulfonyl; v) Substitution reaction with amines as the nucleophile; and vi) Synthesis of hydroxamate by NH_2OH . Belinostat derivatives were obtained in good yields. The structures of the products were confirmed by 1H -NMR and MS spectra. The evaluation of HDAC inhibitory capacity of the synthesized compounds *in silico* was also carried out to investigate the biological activity.

TÓM TẮT

Belinostat là thuốc có khả năng ức chế enzyme HDAC khá tốt, được sử dụng điều trị các khối u ác tính về huyết học và khối u rắn. Trong nghiên cứu này, các dẫn xuất tương tự belinostat đã được tổng hợp thành công qua quy trình đơn giản và hiệu quả, phù hợp với quy mô phòng thí nghiệm tại Việt Nam. Quy trình trải qua 6 bước: i) Tạo *m*-nitrobenzaldehyde sử dụng tác nhân KNO_3/H_2SO_4 ; ii) Phản ứng Wittig sử dụng chất thân hạch ylide; iii) Khử nhóm $-NO_2$ thành $-NH_2$; iv) Phản ứng tạo sulfonyl; v) Phản ứng thế thân hạch với các amine; và vi) Phản ứng tạo thành hydroxamate với tác nhân NH_2OH . Kết quả các dẫn xuất đã được tổng hợp thành công với hiệu suất toàn phần tương đối cao, cấu trúc được xác định dựa trên các phương pháp phổ nghiệm bao gồm 1H -NMR và MS và đánh giá khả năng ức chế HDAC bằng phương pháp *in silico*.

Trích dẫn: Nguyễn Cường Quốc, Huỳnh Như Thảo, Nguyễn Thị Huỳnh Trang, Đặng Thị Thu Thảo, Huỳnh Thanh Ngân, Trần Nguyễn Gia Huy, Nguyễn Hồng Thi, Võ Thị Như Ý, Hà Thị Kim Quy, Lê Thị Bạch, Nguyễn Trọng Tuấn, Bùi Thị Bửu Huệ và Trần Quang Đệ, 2020. Thiết kế, tổng hợp và đánh giá khả năng ức chế enzyme histone deacetylase (HDAC) *in silico* của một số dẫn xuất tương tự belinostat. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 1-9.

1 GIỚI THIỆU

Enzyme histone deacetylase (HDAC) xúc tác cho quá trình deacetyl hoá nhóm ϵ -N acetyllysine amino acid ở phần đuôi của histon. Nhiều nghiên cứu gần đây về HDAC đã chỉ ra rằng hoạt động bất thường của enzyme này có liên quan đến nhiều bệnh ung thư. Trong tế bào ung thư có sự huy động quá mức các enzyme HDAC, gây nên hiện tượng giảm sự acetyl hoá của histone, các chất ức chế HDAC có thể ngăn chặn quá trình này thông qua việc làm thay đổi biểu hiện gen gây ung thư hay các gen ức chế khối u (Roth *et al.*, 2001). Belinostat là thuốc ức chế HDAC được FDA Hoa Kỳ phê duyệt vào năm 2014, chỉ định điều trị ung thư hạch tế bào T ngoại vi và các khối u ác tính về huyết học (Plumb *et al.*, 2003; Poole, 2014). Kế thừa hoạt tính sinh học cao của belinostat, nghiên cứu đã tiến hành tổng hợp các dẫn xuất tương tự với mục tiêu tạo ra các dẫn xuất mới, góp phần phát triển các loại thuốc chữa bệnh có tiềm năng ức chế HDAC. Bằng cách giữ nguyên phần cầu nối cacbon và nhóm chức hydroxamic, thay khung phenyl của belinostat bằng các dẫn xuất amine mang các nhóm thế R khác nhau (Hình 1a). Kết hợp với sự trợ giúp của máy tính hay còn gọi là phương pháp *in silico*, nghiên cứu đã tiến hành docking phân tử đánh giá khả năng ức chế HDAC với mong muốn mô hình hoá dự đoán vị trí, cấu hình thuận lợi mà phân tử ligand có thể gắn kết trên enzyme, từ đó xác định được tâm hoạt động các hợp chất với enzyme, đặc điểm về cấu trúc và tương tác phân tử có khả năng ức chế HDAC.

2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

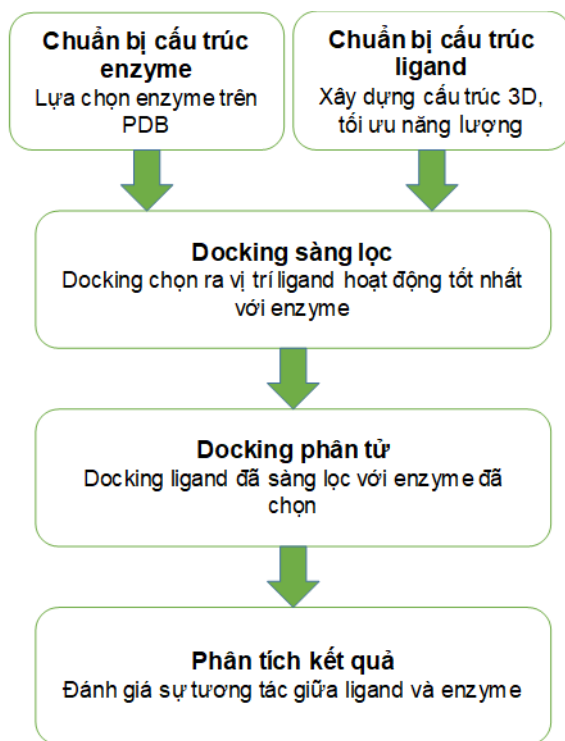
2.1 Nguyên liệu

Các hóa chất và dung môi sử dụng có nguồn gốc từ Merck, Ấn Độ, Trung Quốc và Việt Nam. Sắc ký bản mỏng sử dụng bản nhôm silica gel 60 F₂₅₄ trắng sẵn độ dày 0.2 mm (Merck). Sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ hạt 0.04-0.06 mm (Merck). Kết quả phổ ¹H-NMR được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 500 NMR Spectrometer (độ dịch chuyển hóa học δ được tính theo ppm, hằng số tương

tác J tính bằng Hz) tại Viện Hóa học-Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam và máy cộng hưởng từ Bruker 300 NMR tại Đài Loan. Phổ khối lượng MS được đo trên máy 1100 series LC/MS/MS Trap Agilent tại viện Hoá học-Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam. Nhiệt độ nóng chảy được đo trên máy Stuart Scientific. Các phần mềm sử dụng Chem3D 16.0, Gaussian 09W, GaussView 6.0, Open Babel, AutoDock 4.2, AutoDock Vina, Discovery Studio 2019 Client được chạy trên máy tính Toshiba Satellite P55-A5200 vi xử lý Intel® Core™ i5-3337U, GPU Intel HD Graphics 4000, RAM 8GB, Window 10. Cấu trúc tinh thể enzyme được tải về từ trang web chính thức của ngân hàng dữ liệu Protein Data Bank (PDB). PDB là ngân hàng quốc tế chứa hơn 81000 dữ liệu cấu trúc protein ba chiều, phần lớn chúng được xác định bằng phương pháp tinh thể tia X, còn lại được xác định bằng phổ cộng hưởng từ NMR.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, việc kiểm tra khả năng ức chế enzyme histone deacetylase của các dẫn xuất tổng hợp được thực hiện bằng cách docking phân tử các dẫn xuất vào phân tử enzyme HDAC8 (Số đề 1) tiếp theo kiểm tra các tương tác giữa các dẫn xuất này với enzyme HDAC8, tìm tâm liên kết của các ligand với enzyme, hình dạng liên kết, tính toán năng lượng liên kết (kcal/mol) và so sánh với hợp chất có hoạt tính ức chế HDAC mạnh là belinostat. Cấu trúc hoá học 2D ban đầu của các dẫn xuất được vẽ chuyển đổi tự động sang 3D bằng phần mềm Chem3D 16.0 tiếp theo tiến hành tối ưu hoá cấu trúc phân tử, quá trình được thực hiện bằng phần mềm Gaussian 09W với phương pháp bán thực nghiệm (semi-empirical) PM6. Enzyme HDAC8 (pdb id: 1t67) được tải từ ngân hàng protein (Protein Data Bank www.pdb.org/pdb). Docking phân tử giữa ligand và enzyme được thực hiện bằng bộ công cụ AutoDockTools 1.5.6 có tích hợp sẵn bộ phần mềm AutoDock Vina và AutoDock (Trott and Olson, 2010; Rizvi *et al.*, 2013). Kết quả chỉ ra tương tác giữa các dẫn xuất với enzyme, biểu diễn các tương tác trên mặt phẳng 2D được phân tích bằng phần mềm Discovery Studio 2019 Client.



Sơ đồ 1: Quy trình tiến hành docking phân tử

Phương pháp đun hoàn lưu cổ điển được sử dụng để tổng hợp các dẫn xuất tương tự belinostat. Tiến hành theo dõi quá trình phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng silica gel (TLC). Các dẫn xuất sau khi tổng hợp, được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sau đó kết tinh lại để thu được sản phẩm có độ tinh khiết cao và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ nghiệm hữu cơ bao gồm NMR, FT-MS. Các bước tiến hành tổng hợp các dẫn xuất bao gồm:

Bước 1: Điều chế *m*-nitrobenzaldehyde từ tác chất ban đầu benzaldehyde.

Bước 2: Thực hiện phản ứng tạo mạch cacbon chứa liên kết đôi *trans* -C=C- sử dụng phản ứng Wittig với chất thân hạch ylide.

Bước 3: Khử nhóm -NO₂ thành -NH₂.

Bước 4: Tạo nhóm sulfonyl chloride bằng tác nhân chính là CuCl và khí SO₂.

Bước 5: Tổng hợp các sulfonamide bằng cách thế thân hạch các sulfonyl chloride với các amine.

Bước 6: Phản ứng tạo chức hydroxamate.

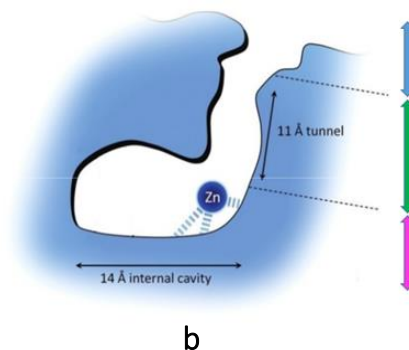
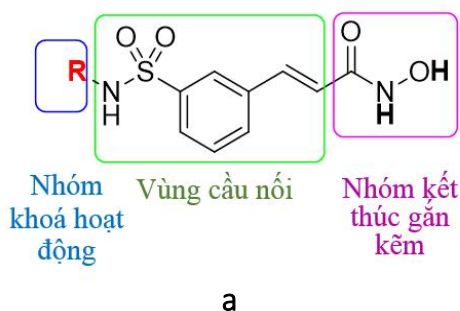
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Năm dẫn xuất có khung tương tự belinostat đã được tổng hợp thành công, quy trình tổng hợp toàn

phần tương đối đơn giản, nguyên liệu rẻ tiền. Việc xác định các chất trung gian và sản phẩm cuối cùng dựa trên dữ liệu phổ NMR. Cụ thể tác chất 2 có sự xuất hiện của 5 tín hiệu proton trong đó tín hiệu có độ dịch chuyển $\delta = 10.12$ ppm được quy kết cho proton thuộc nhóm aldehyde -CHO. Tín hiệu phổ của tác chất 4 cho thấy có sự biến mất của tín hiệu proton nhóm aldehyde. Ở vùng từ trường thấp, có sự xuất hiện của mũi giãn rộng với độ dịch chuyển hóa học $\delta = 12.63$ ppm được quy kết cho proton -COOH, các mũi $\delta = 6.74$ ppm ($J = 16.2$ Hz) và $\delta = 7.70$ ppm ($J = 15.6$ Hz) đặc trưng cho alkene dạng *trans* ứng với đồng phân dạng *E* và độ dịch chuyển hóa học tại $\delta = 3.83$ ppm được quy cho 3 proton của nhóm methoxy -OCH₃. Dữ liệu phổ của 5, ở vùng từ trường cao có sự xuất hiện mũi giãn rộng với cường độ tương đối bằng 2 và độ dịch chuyển hóa học $\delta = 3.74$ ppm được quy kết cho proton của nhóm -NH₂. Tác chất 6 kém bền nên việc tinh chế sản phẩm gặp nhiều khó khăn vì vậy hợp chất 6 được sử dụng vào giai đoạn tiếp theo mà không cần tinh chế. Kết quả dữ liệu phổ của năm dẫn xuất đã tổng hợp cho thấy có sự biến mất tín hiệu singlet của 3 proton nhóm methoxy ở vùng từ trường thấp. Thay vào đó, có sự xuất hiện các mũi proton dao động từ 10.80-10.70 ppm và 9.54-9.11 ppm đặc trưng lần lượt cho các tín hiệu của proton nhóm -OH và proton >NH của

nhóm chức hydroxamate. Cụ thể, ở dẫn xuất **7a** có sự xuất hiện của 11 tín hiệu proton. Trong đó, tín hiệu tại vị trí $\delta = 8.99$ đặc trưng cho nhóm $>NH$ thuộc vùng cầu nối. Phổ MS cho thấy peak ion giả phân tử m/z $[M+Na]^+ = 421.3293$ phù hợp với công thức $C_{15}H_{11}ClN_3O_6SNa$. Dẫn xuất **7c** có sự xuất hiện của 15 tín hiệu proton và sự xuất hiện đặc trưng của tín hiệu mũi doublet $\delta = 4.04$ ppm ($J = 6.5$ Hz) đặc trưng cho 2 tín hiệu proton của $-CH_2-$ trên vòng benzyl. Phổ MS cho thấy peak ion giả phân tử m/z $[M+H]^+ = 351.0808$ phù hợp với công thức $C_{16}H_{15}FN_2O_4S$. Dẫn xuất **7d** có sự xuất hiện của 18 tín hiệu proton và ở vùng từ trường cao xuất hiện mũi singlet $\delta = 3.31$ ppm đặc trưng cho 3 tín hiệu proton của $-CH_3$ ở vị trí para vòng benzyl. Dữ liệu phổ MS cho thấy peak ion giả phân tử m/z $[M+H]^+ = 347.1060$ phù hợp với công thức $C_{17}H_{18}N_2O_4S$. Dẫn xuất **7f** có sự xuất hiện của 16 tín hiệu proton, sự xuất hiện của mũi multiplet $\delta = 7.28-$

7.20 đặc trưng cho 5 proton trên vòng benzyl thuộc vùng khoá hoạt động. Dữ liệu phổ MS cho thấy peak ion giả phân tử m/z $[M+H]^+ = 333.0920$ phù hợp với công thức $C_{16}H_{16}N_2O_4S$. Dẫn xuất **7k** có sự xuất hiện của các tín hiệu proton multiplet nằm ở vùng từ trường cao dao động từ 2.96 ppm đến 1.01 ppm đặc trưng cho 11 proton trên vòng cyclohexyl. Phổ MS cho thấy peak ion giả phân tử m/z $[M+H]^+ = 325.1228$ phù hợp với công thức $C_{15}H_{20}N_2O_4S$. Từ các dữ liệu phổ trên đã cho thấy việc tổng hợp các dẫn xuất tương tự belinostat được thực hiện thành công. Quy trình tổng hợp toàn phần các dẫn xuất tương tự belinostat được minh họa cụ thể trong Hình 2. Các phản ứng thực hiện xảy ra nhanh chóng, điều kiện êm dịu, thời gian kết thúc các phản ứng tương đối ngắn, các tác chất thông dụng, phù hợp với quy mô phòng thí nghiệm tại Việt Nam.



Hình 1: (a) Cấu trúc chung của các dẫn xuất ức chế HDAC; (b) Cấu trúc trung tâm hoạt động HDAC

3-Nitrobenzaldehyde (**2**): Chất rắn màu vàng. Hiệu suất 70%. $R_f = 0.42$ (EtOAc:Hex = 1:4). 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, δ ppm): 10.12 (s, 1H, $-CHO$), 8.71 (dd, $J = 1.8$ Hz, 1H, $>CH-$), 8.47-8.71 (m, 1H, $>CH-$), 8.21-8.25 (m, 1H, $>CH-$), 7.76 (t, $J = 7.95$ Hz, 1H, $>CH-$).

Methyl (*E*)-3-(3-nitrophenyl)acrylate (**4**): Chất rắn màu vàng nhạt. Hiệu suất 64.3%. $R_f = 0.35$ (EtOAc:Hex = 1:5). 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, δ ppm): 8.37 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, $>CH-$), 8.24 (dd, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 1.2$ Hz, 1H, $>CH-$), 7.80 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, $>CH-$), 7.72 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H, $=CH-$), 7.58 (t, $J = 7.95$ Hz, 1H, $>CH-$), 6.55 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H, $=CH-$), 3.83 (s, 3H, $-CH_3$).

Methyl (*E*)-3-(3-aminophenyl)acrylate (**5**): Chất rắn màu vàng. Hiệu suất 92%. $R_f = 0.26$ (EtOAc:Hex = 1:5). 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, δ ppm): 7.60 (d,

$J = 15.9$ Hz, 1H, $=CH-$), 7.17 (t, $J = 7.65$ Hz, 1H, $>CH-$), 6.92 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, $>CH-$), 6.81 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H, $>CH-$), 6.68-6.72 (m, 1H, $>CH-$), 6.37 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H, $=CH-$), 3.79 (s, 1H, $-CH_3$), 3.73 (s, 2H, $-NH_2$).

(*E*)-3-(3-(*N*-(4-Chloro-3-nitrophenyl)sulfamoyl)phenyl)-*N*-hydroxyacrylamide (**7a**): Chất rắn màu vàng nhạt. Hiệu suất 24%. Mp: 201.0-202.3°C. $R_f = 0.45$ (EtOAc). 1H -NMR (500 MHz, DMSO, δ ppm): 10.71 (s, 1H, $-OH$), 9.54 (s, 1H, $>NH$), 8.99 (s, 1H, $>NH$), 7.35 (d, $J = 16$ Hz, 1H, $=CH-$), 7.20 (t, $J = 7.75$ Hz, 2H, 2 $>CH-$), 6.96 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, $>CH-$), 6.92 (s, 1H, $>CH-$), 6.78 (dd, 2H, $J_1 = 2$ Hz, $J_2 = 8$ Hz, 2 $>CH-$), 6.37 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, $=CH-$). MS (IDA) m/z 421.3293 $[M+Na]^+$.

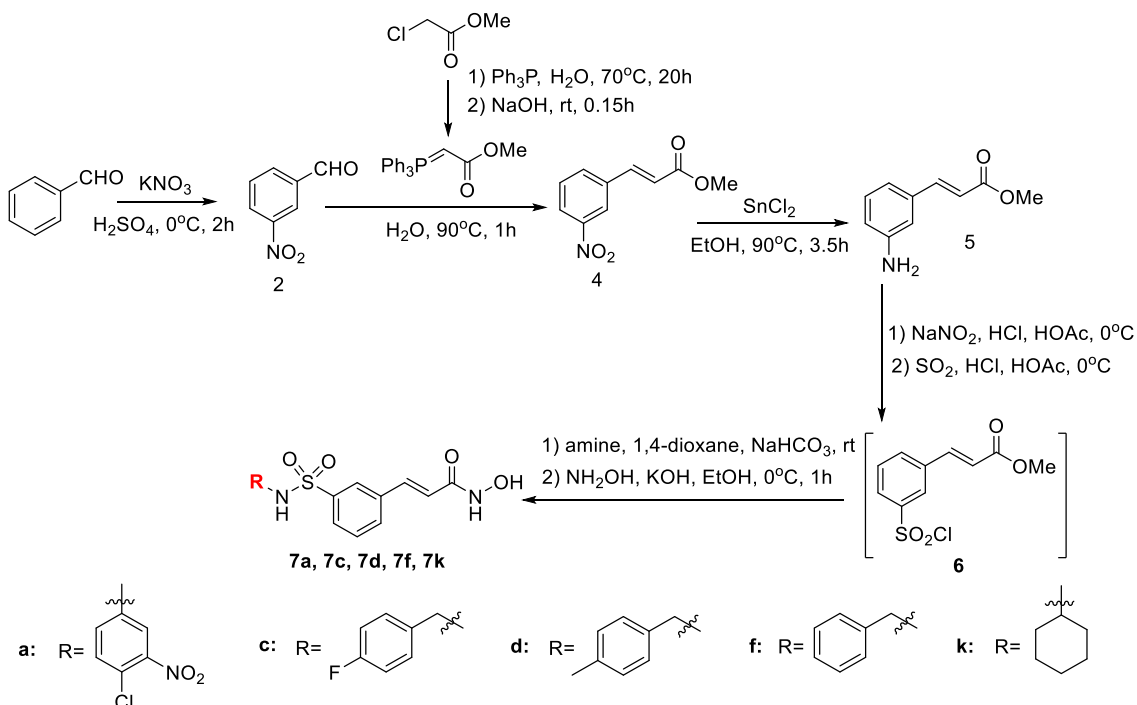
(*E*)-3-(3-(*N*-(4-Fluorobenzyl)sulfamoyl)phenyl)-*N*-hydroxyacrylamide (**7c**): Chất rắn màu trắng. Hiệu suất 54%. Mp: 164.3-166.2°C. $R_f=0.50$ (EtOAc). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO, δ ppm): 10.81 (s, 1H, -OH), 9.11 (s, 1H, >NH), 8.23 (t, 1H, $J=6.5$ Hz, >NH), 7.89 (s, 1H, >CH-), 7.76 (m, 2H, 2 >CH-), 7.59 (t, $J=7.75$ Hz, 1H, >CH-), 7.50 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, =CH-), 7.27-7.24 (m, 2H, >CH-), 7.09-7.04 (m, 2H, >CH-), 6.54 (d, $J=16$ Hz, 1H, =CH-), 4.02 (d, $J=6.5$ Hz, 2H, -CH₂-). MS (IDA) m/z 351.0808 [M+H]⁺.

(*E*)-*N*-Hydroxy-3-(3-(*N*-(4-methylbenzyl)sulfamoyl)phenyl)acrylamide (**7d**): Chất rắn màu trắng. Hiệu suất 60%. Mp: 178.8-179.9°C. $R_f=0.48$ (EtOAc). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO, δ ppm): 10.81 (s, 1H, -OH), 9.11 (s, 1H, >NH), 8.14 (t, 1H, $J=6.25$ Hz, >NH), 7.87 (s, 1H, >CH-), 7.76 (t, $J=8.75$ Hz, 2H, 2 >CH-), 7.59 (t, $J=7.75$ Hz, 1H, >CH-), 7.48 (d, $J=16$ Hz, 1H, =CH-), 7.09 (d, $J=8$ Hz, 2H, 2 >CH-), 7.04 (d, $J=8$ Hz, 2H, 2 >CH-), 6.54 (d, $J=16$ Hz, 1H, =CH-),

3.97 (d, $J=6.5$ Hz, 1H, -CH₂-), 2.23 (s, 3H, -CH₃). MS (IDA) m/z 347.1060 [M+H]⁺.

(*E*)-3-(3-(*N*-Benzylsulfamoyl)phenyl)-*N*-hydroxyacrylamide (**7f**): Chất rắn màu vàng. Hiệu suất 44%. Mp: 174.3-175.8°C. $R_f=0.55$ (EtOAc). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO, δ ppm): 10.81 (s, 1H, -OH), 9.12 (s, 1H, >NH), 8.20 (br, 1H, >NH), 7.92 (s, 1H, >CH-), 7.77 (t, $J=8.25$ Hz, 2H, 2 >CH-), 7.59 (t, $J=7.75$ Hz, 1H, >CH-), 7.49 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, =CH-), 7.28-7.20 (m, 5H, 5 >CH-), 6.55 (d, $J=16$ Hz, 1H, =CH-), 4.02 (s, 2H, 2 -CH₂-). MS (ESI) m/z 333.0920 [M+H]⁺.

(*E*)-3-(3-(*N*-Cyclohexylsulfamoyl)phenyl)-*N*-hydroxyacrylamide (**7k**): Chất rắn màu vàng nhạt. Hiệu suất 44.2%. Mp: 192.0-193.1°C. $R_f=0.55$ (EtOAc). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO, δ ppm): 10.81 (s, 1H, -OH), 9.11 (s, 1H, >NH), 7.97 (s, 1H, >CH-), 7.79 (dd, 2H, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=7.75$ Hz, 2 >CH-), 7.68 (d, $J=7$ Hz, 1H, >NH), 7.61 (t, $J=7.75$ Hz, 1H, >CH-), 7.51 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, =CH-), 6.56 (d, $J=16$ Hz, 1H, =CH-), 2.96-2.95 (m, 1H, >CH-), 1.56-1.42 (m, 5H, 5 -CH₂-), 1.17-1.01 (m, 5H, 5 -CH₂-). MS (ESI) m/z 325.1228 [M+H]⁺.



Hình 2: Quy trình tổng hợp các dẫn xuất 7a, 7c, 7d, 7f và 7k tương tự belinostat

Để đánh giá khả năng ức chế enzyme HDAC của các dẫn xuất tổng hợp được, nghiên cứu đã tiến hành docking phân tử các dẫn xuất với enzyme HDAC8

(id: 1t67) và so sánh với kết quả docking của belinostat. Việc docking có vai trò quan trọng trong dự đoán ái lực và hoạt tính của các dược chất đối với

protein, từ đó dự đoán khả năng hoạt hoá, tâm hoạt động và ức chế đối với enzyme. Sau khi docking sàng lọc vị trí hốc liên kết tối ưu nhất trên toàn bộ phân tử enzyme HDAC8 bằng phần mềm AutodockVina, ligand có mức năng lượng thấp nhất được chọn, sau đó tiến hành docking bằng Autodock4 với tham số hợp lưới 40×40×40 và khoảng cách giữa các điểm là 0.375 Å, chọn tâm của ligand làm chuẩn, sử dụng thuật toán di truyền Lamarckian, các tham số khác được giữ nguyên giống tham số mặc định của chương trình. Kết quả docking (Bảng 1) được hiển thị, sắp xếp và lựa chọn theo tiêu chí năng lượng thấp nhất. Kết hợp với giá

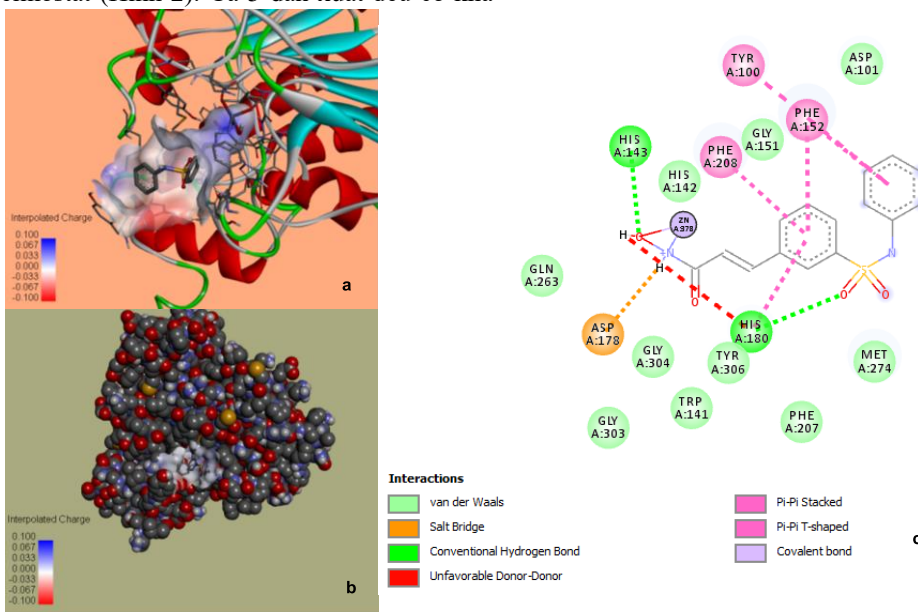
trị độ lệch căn quân phương RMSD (root-mean square deviation), RMSD có vai trò như là phép đo đặc chất lượng các kết quả docking, những cấu trúc docking được xem là thành công khi giá trị RMSD không vượt quá 2.0 Å (Gohlke *et al.*, 2000). Trung tâm hoạt động HDAC gồm 2 phần chính (Hình 1b): ion Zn^{2+} là coenzyme của HDAC và kênh enzyme dạng túi hình ống, cấu trúc linh động có thể biến đổi phù hợp với chiều dài ligand khác nhau, trên miệng túi có một vành nhỏ được tạo nên từ một vài vòng xoắn protein, phần vành này sẽ tương tác với nhóm nhận diện bề mặt HDAC (Verdin, 2006).

Bảng 1: Giá trị RMSD, năng lượng tự do liên kết dự đoán, giá trị hằng số ức chế K_i của kết quả docking các dẫn xuất tương tự belinostat

STT	Tên dẫn xuất	Giá trị RMSD (Å)	Năng lượng tự do liên kết dự đoán (kcal/mol)	Hằng số ức chế K_i (nM)
1	7a	1.004	-9.35	139.1
2	7c	0.926	-8.25	891.3
3	7d	1.225	-8.47	619.1
4	7f	1.220	-8.22	948.7
5	7k	1.071	-7.91	1058
6	Belinostat	1.050	-8.69	424.2

Kết quả docking cho thấy mức độ tương tác tốt của các dẫn xuất tổng hợp được với trung tâm hoạt động của HDAC8 gần tương tự với kết quả docking của belinostat (Hình 2). Cả 5 dẫn xuất đều có khả

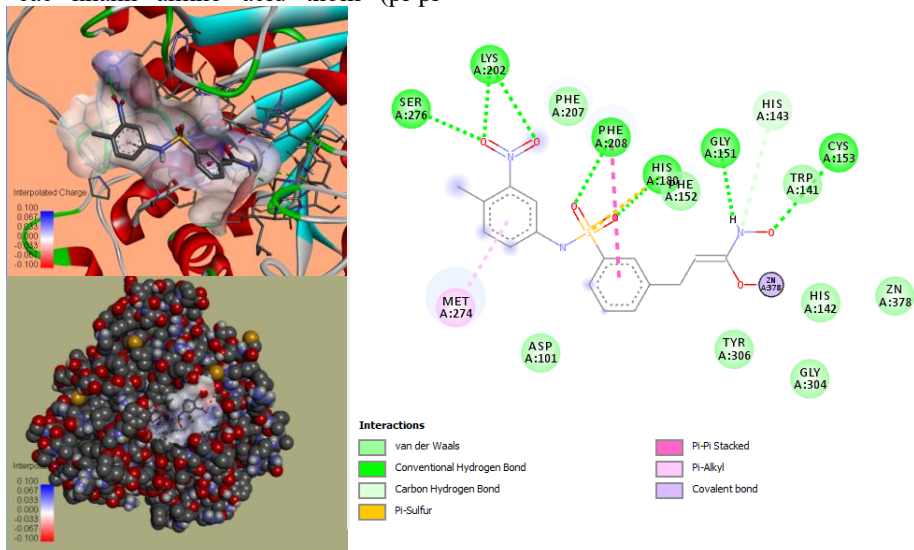
năng đi sâu vào khoang gắn kết và đều tạo được phức với ion Zn^{2+} nằm sâu trong trung tâm hoạt động của enzyme đây được xem là cơ chế quan trọng gây ức chế enzyme HDAC (Verdin, 2006).



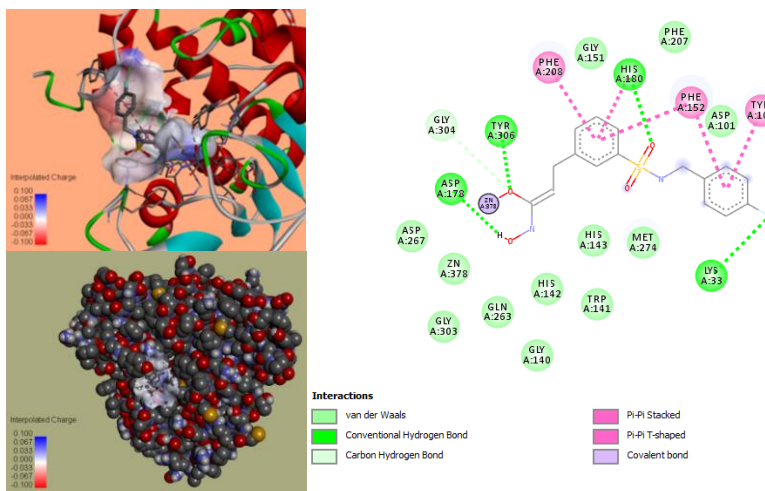
Hình 3: Tương tác của belinostat vào tâm hoạt động của HDAC8: (a) Belinostat tương tác với trung tâm hoạt động của HDAC8 dạng hình túi hình ống; (b) Vị trí tương tác của belinostat trên enzyme HDAC8; (c) Các tương tác của belinostat trên tâm hoạt động của HDAC8

Tất cả các mức năng lượng của các dẫn xuất liên kết với tâm liên kết HDAC8 dao động từ -9.35 kcal/mol đến -7.91 kcal/mol. Dẫn xuất **7a** có năng lượng tương tác thấp nhất -9.35 kcal/mol thấp hơn mức năng lượng tương tác của belinostat -8.69 kcal/mol cho thấy dẫn xuất tạo phức trong enzyme ổn định nhất so với các hợp chất còn lại. Bên cạnh đó, các dẫn xuất này đều tương tác mạnh với enzyme thông qua nhiều liên kết hydro với các amino acid His143, His180, His142, giàu liên kết kỵ nước với các amino acid thơm có tính thân dầu Phe152, Phe208, Tyr100, Met274, tương tác van der Waals, tương tác hút giữa vòng thơm của ligand và vòng thơm của các nhánh amino acid thơm (pi-pi

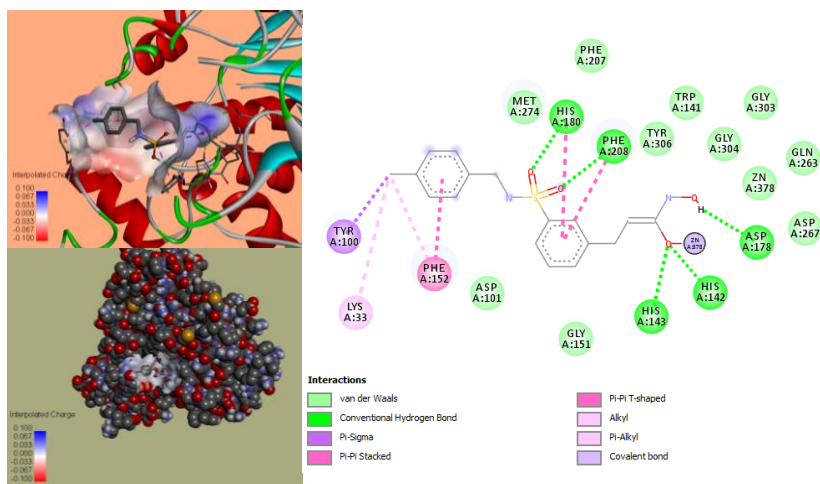
stacked). Cụ thể dẫn xuất **7a** giàu tương tác hydro, nhóm -NO₂ thể hiện tương tác tốt với amino acid phân cực Ser276, amino acid base Lys202 và tương tác pi-alkyl giữa vòng phenyl với amino acid thơm Met274 (Hình 3). Dẫn xuất **7c** thể hiện tương tác tốt giữa vòng benzyl với các nhánh amino acid thơm kỵ nước Phe152, Tyr100 và tương tác hydro giữa amino acid base Lys33 với -F (Hình 4), dẫn xuất **7d** có nhóm -CH₃ tương tác mạnh với các amino acid Tyr100, Lys33 và Phe152 (Hình 5). Hai dẫn xuất **7f** và **7k** có vòng benzyl và cyclohexyl thể hiện tương tác hút pi-pi stacker, pi-alkyl với các nhánh amino acid thân dầu Phe152, Tyr100 (Hình 6, Hình 7).



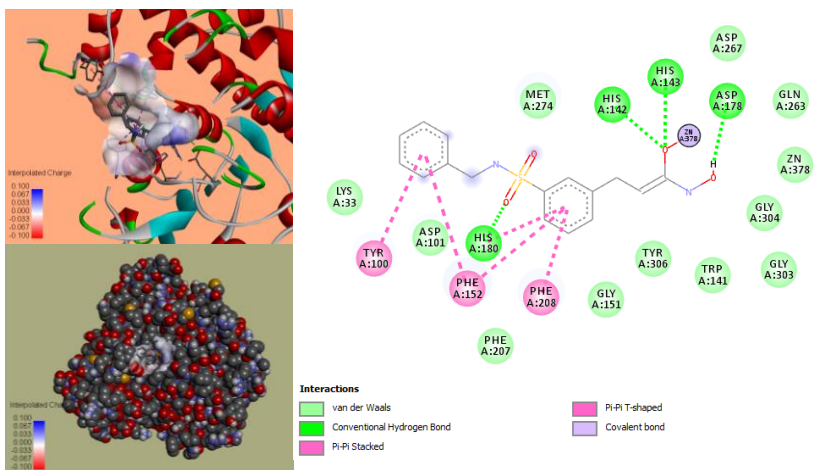
Hình 4: Kết quả docking và tương tác của 7a vào tâm hoạt động của HDAC8



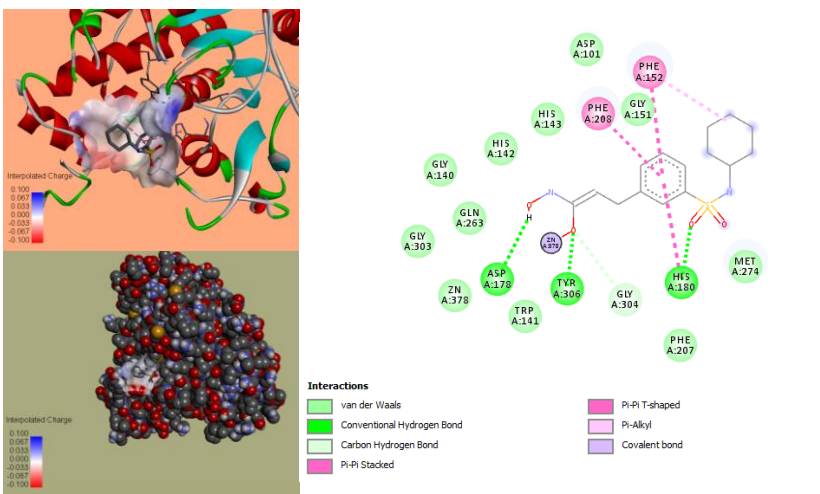
Hình 5: Kết quả docking và tương tác của 7c vào tâm hoạt động của HDAC8



Hình 6: Kết quả docking và tương tác của 7d vào tâm hoạt động của HDAC8



Hình 7: Kết quả docking và tương tác của 7f vào tâm hoạt động của HDAC8



Hình 8: Kết quả docking và tương tác của 7k vào tâm hoạt động của HDAC8

Như vậy nhìn chung xét ở mức độ phân tử các dẫn xuất có cấu dạng hoàn toàn phù hợp, ổn định trong trung tâm hoạt động của HDAC8, có hoạt tính tương đối mạnh, có ái lực liên kết tốt với đích phân tử được dự đoán là có khả năng ức chế enzyme HDAC.

4 KẾT LUẬN

Năm dẫn xuất tương tự belinostat đã được tổng hợp thành công. Đánh giá khả năng ức chế enzyme histone deacetylase bằng docking phân tử cho kết quả khá tốt. Dẫn xuất 7a giàu tương tác hydro, tương tác tốt với amino acid phân cực Ser276, Lys202 và tương tác pi-alkyl với Met274. Dẫn xuất 7c thể hiện tương tác mạnh với amino acid thơm kỵ nước Phe152, Tyr100, tương tác hydro với Lys33. Dẫn xuất 7d tương tác mạnh với Tyr100, Lys33 và Phe152. Hai dẫn xuất 7f và 7k thể hiện tương tác hút pi-pi stacker, pi-alkyl với các amino acid thân dầu Phe152, Tyr100. Quy trình tổng hợp các dẫn xuất tương đối đơn giản, hiệu quả, sử dụng tác chất rẻ tiền và đặc biệt nước đã được sử dụng nhiều để thay thế cho các dung môi hữu cơ độc hại góp phần thân thiện với môi trường. Ngoài ra kết quả nghiên cứu này là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm phát triển các dẫn xuất mới có khả năng ức chế enzyme histone deacetylase và tiền đề cho các phương pháp sàng lọc ảo in silico kết hợp với các phương pháp thử hoạt tính sinh học in vitro, in vivo giúp tìm kiếm và tối ưu hoá các dẫn xuất định hướng cho tổng hợp thuốc điều trị ung thư mới.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ nghiên cứu khoa học dành cho sinh viên năm 2019 của Trường Đại học Cần Thơ trong đề tài mã số TSV2019-48.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gohlke, H., Hendlich, M., and Klebe, G., 2000. Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, 295(2): 337–356.
- Plumb, J. A., Finn, P. W., Williams, R. J., *et al.*, 2003. Pharmacodynamic response and inhibition of growth of human tumor xenografts by the novel histone deacetylase inhibitor PXD101. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2(8): 721–728.
- Poole, R. M., 2014. Belinostat: first global approval. *Drugs*, 74(13): 1543–1554.
- Rizvi, S. M. D., Shakil, S., and Haneef, M., 2013. A simple click by click protocol to perform docking: Autodock 4.2 made easy for non-bioinformaticians. *EXCLI Journal*, 12: 830–857.
- Roth, S. Y., Denu, J. M., and Allis, C. D., 2001. Histone acetyltransferases. *Annual Review of Biochemistry*, 70(1): 81–120.
- Trott, O., and Olson, A. J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2): 455–461.
- Verdin, E., 2006. Histone Deacetylases: Transcriptional Regulation and other Cellular Functions, *British Journal of Cancer*. Humana Press, 352 pages.
- Yang, L., Xue, X., and Zhang, Y., 2010. Simple and efficient synthesis of belinostat. *Synthetic Communications*, 40(17): 2520–2524.
- Huỳnh Như Thảo và Nguyễn Cường Quốc, 2019. Nghiên cứu tổng hợp toàn phần hoạt chất Beleodaq. Đề tài nghiên cứu khoa học của sinh viên. Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.