

# Phân tích dữ liệu chất chuyển hóa thứ cấp trong cây bình bát (*Annona glabra* L.) hướng tác dụng ức chế FtsZ *in silico*

Bùi Quốc Dũng<sup>1\*</sup>

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

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Bình bát (*Annona glabra* L.) là một loài phân bố rộng rãi ở nước ta với nhiều hoạt tính như chống ung thư, kháng HIV, kháng khuẩn, trị sốt rét, tiêu chảy, diệt ký sinh trùng, ...Quá trình sàng lọc *in vitro* cho thấy dịch chiết methanol của *Annona glabra* L., ức chế hoạt tính của FtsZ GTPase nổi trội. Nghiên cứu này nhằm khảo sát khả năng ức chế FtsZ GTPase *in silico* của các chất chuyển hoá thứ cấp trong cây Bình bát. **Phương pháp nghiên cứu:** Chất chuyển hoá của Bình bát được sưu tập từ các bài báo trong thư viện Pubmed, Researchgate.... Cấu trúc tinh thể 6YD5 trên ngân hàng cơ sở dữ liệu protein PDB được lựa chọn để xây dựng mô hình docking. Quá trình docking thực hiện trên phần mềm LeadIT. Dữ liệu được xử lý và trực quan hoá với ngôn ngữ lập trình Python. **Kết quả:** 192 cấu trúc trong Bình bát được sưu tầm từ năm 1991 đến năm 2015. Mô hình docking được xây dựng thoả mãn yêu cầu. 37 chất docking thành công từ 140 cấu trúc không trùng lặp. (-)-Roemerolin là một alkaloid aporphin cho điểm số docking thấp nhất -19,7 kJ/mol. Các cấu trúc tiềm năng phân bố chủ yếu ở lá, thân, quả. **Kết luận:** Phân đoạn chloroform của Bình bát chứa phong phú các alkaloid, amid và polyphenol là phân đoạn tiềm năng ức chế FtsZ. Alkaloid đa vòng aporphin, azaanthraquinon, protoberberin cung cấp cấu trúc khởi đầu cho việc tìm kiếm thuốc kháng khuẩn hướng mục tiêu mới.

**Từ khoá:** *Annona glabra* L., FtsZ, docking, kháng khuẩn, chất chuyển hoá thứ cấp.

# Data analysis of secondary metabolites in pond apple (*Annona Glabra* L.) for potential FtsZ inhibitors *in silico*

Bui Quoc Dung<sup>1\*</sup>

(1) Faculty of Pharmacy, Buon Ma Thuot Medical University

## Abstract

**Background:** The pond apple (*Annona glabra* L.) is a specie widely distributed in our country with many activities such as anticancer, anti-HIV, antibacterial, antimalarial, antidiarrheal, antiparasitic, etc. The *in vitro* screening process showed that the methanol extract of *Annona glabra* L. inhibited the activity of FtsZ GTPase prominently. This study aims to investigate the ability to inhibit FtsZ GTPase *in silico* of secondary metabolites in pond apple. **Materials and Methods:** *Annona glabra* metabolites were collected from articles in Pubmed, Researchgate, etc. The 6YD5 crystal structure in the PDB protein database was selected to build the docking model. The docking process was performed on LeadIT software. Data was processed and visualized with the Python programming language. **Results:** 192 structures in pond apple were collected from 1991 to 2015. The docking model was built to meet the requirements. 37 compounds successfully docked from 140 non-overlapping structures. (-)-Roemeroline is an aporphine alkaloid with the lowest docking score of -19.7 kJ/mol. The potential structures are mainly distributed in leaves, stems, and fruits. **Conclusion:** The chloroform fraction of pond apple contains abundant alkaloids, amides, polyphenols which is the potential fraction to inhibit FtsZ. Multicyclic alkaloids such as aporphine, azaanthraquinone, protoberberine provide initial active compounds for the search for new targeted antibacterial drugs.

**Keywords:** *Annona glabra*, FtsZ, molecular docking, antibacterial, secondary metabolites.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Bình bát (*Annona glabra*) xuất hiện khá nhiều ở Việt Nam. Cây mọc hoang ở các tỉnh ven biển từ Quảng Ninh vào Quảng Nam (Cù Lao Chàm) và các tỉnh Nam Bộ [1]. Các nhóm hóa học chính

trong cây Bình bát là acetogenin, ent-kauran, peptid và alkaloid [2]. Bình bát chứa nhiều hợp chất có khả năng trị sốt rét, tiêu chảy, diệt ký sinh trùng, kháng giun, kháng viêm, gây độc tế bào, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng oxy hóa [3, 4].

Tác giả liên hệ: Bùi Quốc Dũng. Email: bqdung@bmtuvietnam.com

Ngày nhận bài: 1/12/2023; Ngày đồng ý đăng: 10/6/2024; Ngày xuất bản: 25/6/2024

DOI: 10.34071/jmp.2024.3.3

Protein tương đồng tubulin (FtsZ) đóng vai trò chính trong quá trình phân chia tế bào nhân sơ [5]. Cấu trúc không gian ba chiều của FtsZ trong vi khuẩn tương tự như cấu trúc của  $\alpha$ - và  $\beta$ -tubulin. Cả protein FtsZ và tubulin đều được chứng minh là đóng vai trò quan trọng trong các tế bào sống như duy trì hình dạng, cấu trúc và sự phân chia tế bào [6]. Protein FtsZ và tubulin được polyme hóa theo cách phụ thuộc vào GTP để tạo thành các sợi khung tế bào để phân chia tế bào, nhưng chúng có các chức năng khác nhau. Protein tubulin trùng hợp thành các vi ống chịu trách nhiệm vận chuyển vật liệu di truyền đến các cực của tế bào đang phân chia, trong khi FtsZ, trùng hợp thành các vòng Z cùng với các protein phân chia khác, chịu trách nhiệm phân chia tế bào vi khuẩn. FtsZ có cấu trúc tương tự như tubulin, nhưng sự tương đồng về trình tự chỉ là 10 - 18% [5]. FtsZ được coi là mục tiêu hấp dẫn để khám phá thuốc kháng khuẩn mới. FtsZ là một protein thiết yếu cho khả năng sống của vi khuẩn. Chất ức chế FtsZ hoạt động như một chất kháng khuẩn phổ rộng khi chưa xác định được nguyên nhân của tác nhân lây nhiễm. Protein FtsZ được bảo tồn cao ở tế bào nhân sơ và đã được xác định ở hầu hết các vi khuẩn. FtsZ không có ở tế bào nhân thực, điều này cho thấy rằng chất ức chế FtsZ không gây độc cho tế bào người. Cuối cùng, vì các protein phân chia tế bào không phải là mục tiêu của bất kỳ loại kháng sinh được cấp phép nào, nên có thể dự đoán rằng sẽ không có kháng chéo trong các quần thể vi khuẩn kháng thuốc [6].

Năm 2018, tác giả Hoàng Xuân Huyền Trang và Nguyễn Thị Hoài đã tiến hành nghiên cứu để tìm kiếm các chất kháng khuẩn mới từ 72 loài thực vật thu hái ở miền Trung Việt Nam. Các mẫu thực vật được chiết xuất bằng methanol. Sau đó, dịch chiết được sử dụng để đánh giá tác dụng ức chế FtsZ. Có ba mẫu cho thấy hoạt tính ức chế đáng kể FtsZ trong số 72 dịch chiết. Dịch chiết *Annona glabra* L., *Grevillea robusta* A. Cunn. ex R. Br. và *Sarcosperma affinis* Gagnep. ức chế hoạt tính của FtsZ GTPase ở mức  $55,76 \pm 4,20\%$ ,  $64,43 \pm 5,55\%$  và  $88,36 \pm 6,50\%$ , nồng độ thử nghiệm là 500  $\mu\text{g/mL}$  [7].

Từ những nghiên cứu trên, việc tìm hiểu sâu hơn về thành phần có hoạt tính của Bình bát theo hướng ức chế hoạt tính FtsZ là rất cần thiết với tình hình kháng kháng sinh đáng báo động hiện nay. Việc chiết xuất từ tự nhiên để thử hoạt tính sinh học gặp khó khăn do lượng mẫu thử nhỏ, cũng như việc tổng hợp hoàn toàn những chất đó cần có thời gian thử nghiệm lâu dài. Phương pháp *in silico* cho phép nghiên cứu ở mức độ tương tác phân tử, giúp tiết kiệm thời gian, công sức, tiền bạc. Dự đoán về những cấu trúc có tác dụng, dung môi, bộ phận chứa

những hoạt chất tiềm năng rất cần thiết cho các nhà nghiên cứu dược liệu và hoá dược trên con đường tìm kiếm chất tiềm năng.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cấu trúc hoá học của các hợp chất trong cây Bình bát (*Annona glabra* L.) được thu thập từ các bài báo khoa học.

Cấu trúc tinh thể FtsZ của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB PDB được sử dụng cần thoả mãn các tiêu chí sau: độ phân giải bé hơn 3 Å, giá trị R thấp, gắn kết với phối tử, năm xuất hiện của các cấu trúc gần thời điểm hiện tại. Cấu trúc tinh thể 5MN6, 5MN7, 5MN8 bị loại do độ phân giải thấp. Cấu trúc 5MN4, 5MN5 bị loại do không gắn kết phối tử benzamid. Như vậy, còn lại các cấu trúc 4DXD, 6KVP, 6KVQ, 6YD1, 6YD5, 6YD6. Cấu trúc 4DXD xuất hiện vào năm 2012 và đã được nghiên cứu nhiều trong các tài liệu, gắn kết với phối tử 9PC (PC190723), không có sự xuất hiện của phối tử ion kiềm và kiềm thổ. Các phối tử xuất hiện gần đây có độ phân giải khá tốt, xuất hiện các ion Ca, K, chưa được nhiều nghiên cứu thực hiện. Dựa vào cân nhắc các tiêu chí trên, 6YD5 được lựa chọn để thực hiện docking. Cấu trúc 6YD5 gồm có GDP (guanosine-5'-diphosphat), phối tử OM8 (3-[(3-chlorophenyl)methoxy]-2,6-bis(fluoranyl)benzamid), MB3 (1-methylpyrrolidin-2-on), EDO (1,2-ethanediol) và K.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Xây dựng dữ liệu chất chuyển hoá

Các cấu trúc hoá học đã xác định bằng phổ NMR, IR, GCMS của các hợp chất phân lập trong cây Bình bát được tìm kiếm trong các bài báo trên Pubmed, Researchgate. Trong các bài báo, một số trường hợp đặc biệt thì sẽ có ký hiệu riêng. Cụ thể, ký hiệu a dành cho các chất được nêu tên trong bài báo nhưng không được đánh số, bài báo không có công thức nhưng tìm được trong Pubchem. Ký hiệu b đối với các chất mà có sự khác nhau giữa công thức trong bài báo và trong Pubchem, chất đó được lấy công thức theo Pubchem. Ký hiệu c dành cho các chất không có công thức nhưng có tên và được đánh số trong bài báo. Các chất hoá học này được vẽ bằng phần mềm ChemDraw, đặt tên và lưu dưới dạng file \*.cdxml. Tiếp theo, các phân tử này được lưu dưới 1 file \*.sdf. Ngoài ra, một bảng được lập ra trong phần mềm Excel gồm tên hoá học, mã khóa (mã trong bài báo khoa học), dung môi chiết xuất, bộ phận chiết xuất, tên bài báo khoa học, ghi chú. Sau đó, các chất hoá học giống nhau sẽ được lọc và loại bỏ khỏi bảng, chỉ để lại những chất duy nhất. Dữ liệu dạng bảng này sẽ được phân tích bằng ngôn ngữ lập trình Python.

## 2.2.2. Mô hình docking

### Tiến hành docking

Chuẩn bị phức hợp trong phần mềm MOE. Đầu tiên, phức hợp cần xóa đi các phân tử nước, các phối tử không liên quan để còn lại 1 chuỗi protein và phối tử thông qua Sequence Editor. Sau đó, sửa chữa cấu trúc, proton hóa cấu trúc, tính điện tích riêng phần, tối ưu hóa hình học, tối thiểu hóa năng lượng với gradient 0,0001 kJ/mol bằng công cụ QuickPrep.

Chuẩn bị phối tử trong phần mềm Sybyl. Tối thiểu hóa năng lượng lần 1, chọn Compute/Minimize/Molecule. Tiến hành chạy động học phân tử bằng công cụ Compute/Dynamics/Setup Smilited Annealing. Tối thiểu hóa năng lượng lần 2 giống như bước 1, lưu lại dưới dạng \*.mol2.

Tiến hành docking trong phần mềm LeadIT. **Bước 1:** Chuẩn bị túi gắn kết bằng công cụ Prepare receptor. **Bước 2:** Chọn phối tử để docking bằng công cụ Docking/Choose Docking Library/. Load file. Ở đây chương trình chấp nhận dạng chuẩn bị của ligand là \*.mol2 và \*.sdf. **Bước 3:** Xác định các thông số cho quá trình docking bằng công cụ Docking/ Define FlexX Docking: Số lượng cấu dạng tốt nhất được giữ lại là 1 (Top1). Cấu dạng tốt nhất là cấu dạng có điểm số docking âm nhất. Chọn Apply and Dock.

### Redocking lại phối tử

Việc đánh giá mô hình bằng cách redocking sẽ thực hiện như sau: Chuẩn bị 3 phối tử (PT) ở 3 file sdf với cấu dạng được mô tả như sau. Phối tử 1 (PT1): Phối tử được tách ra từ phức hợp đồng kết tinh. Phối tử 2 (PT2): Phối tử được tách ra từ phức hợp đồng kết tinh và được chuẩn bị như quy trình chuẩn bị phối tử. Phối tử 3 (PT3): Phối tử được vẽ bằng phần mềm Chemdraw và được chuẩn bị như quy trình chuẩn bị phối tử. Sau khi docking 3 phối tử trên, ghi nhận điểm số chức năng, RMSD và mô thức gắn kết. Yêu cầu: RMSD < 2 Å.

## 2.2.3. Xử lý và phân tích dữ liệu

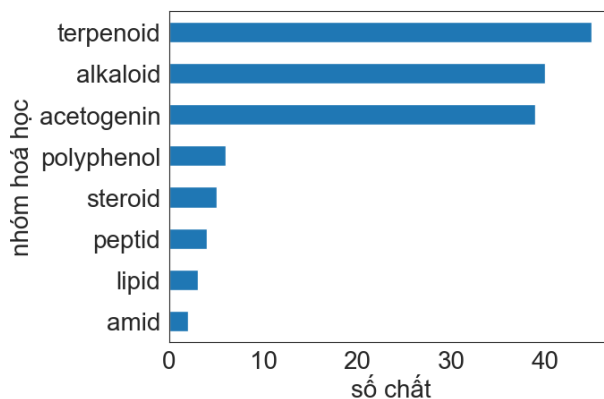
Việc xử lý và phân tích dữ liệu được thực hiện với ngôn ngữ lập trình Python trong trình biên tập mã Visual Studio Code. Thư viện pandas cung cấp cho chúng ta một số công cụ hữu ích để khám phá, làm sạch và phân tích dữ liệu. Các phương thức để sắp xếp dữ liệu trong pandas gồm có crosstab, groupby, pivot\_table. Trực quan hoá dữ liệu với các biểu đồ stripplot và heatmap trong thư viện seaborn. Chính sửa nhấn của các trục với thư viện matplotlib.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Mô tả dữ liệu thô chất chuyển hoá

Dữ liệu về các hợp chất được thu thập từ 25 bài báo kéo dài từ 1991 - 2015 (8-32). 192 chất (bao gồm cả các chất giống nhau) đã được thu thập. Một số chất có cấu trúc giống nhau và có thể chiết xuất ở các bộ phận khác nhau của cây. Có tất cả 4 chất ký hiệu a, 4 chất ký hiệu b, 3 chất ký hiệu c. 16 chất không xác định được dung môi chiết xuất. 4 bộ phận được dùng để phân lập bao gồm hạt, lá, quả và thân cây.

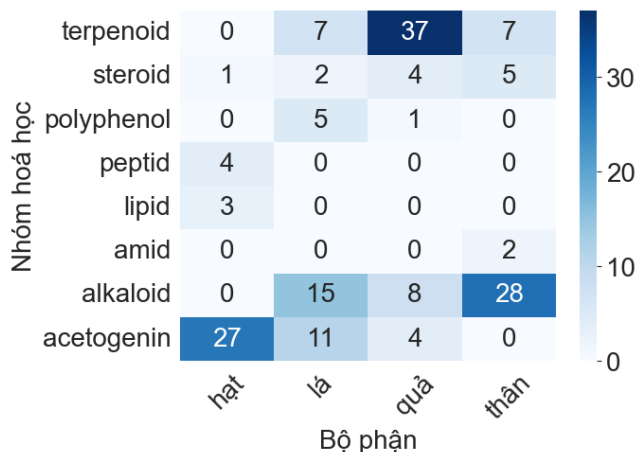
8 nhóm hợp chất hoá học được xác định trong cây Bình bát nước (**Hình 1**). Ba nhóm có số lượng chất nhiều nhất là terpenoid, alkaloid và acetogenin. Trong đó, terpenoid là nhóm có số lượng chất nhiều nhất với 45 chất. Hai nhóm alkaloid và acetogenin có số lượng chất lần lượt là 40 và 39 chất. Các nhóm peptid, lipid, amid được phân lập với số lượng mỗi nhóm rất ít (nhỏ hơn 5). Có 7 phân nhóm trong nhóm alkaloid gồm có aporphin, protoberberin, isoquinolin, oxoaporphin, azaanthraquinon, morphinandienon, dioxoaporphin. Aporphin là phân nhóm có nhiều chất nhất với 19 chất, tiếp sau là protoberberin 9 chất. Dioxoaporphin, morphinandienon có 1 chất trong mỗi phân nhóm. Có 3 phân nhóm trong nhóm terpenoid là kauran diterpenoid, sesquiterpenoid, monoterpenoid. Nổi bật nhất là phân nhóm kauran diterpenoid với 38 chất.



Hình 1. Biểu đồ cột về số lượng chất theo nhóm hóa học

Nhóm terpenoid có 32 chất trong dịch chiết cloroform, 7 chất trong dịch chiết nước và 5 chất trong dịch chiết acetone. Nhóm alkaloid (40 chất) chỉ được chiết bằng cloroform. Nhóm acetogenin hiện diện trong 6 dịch chiết khác nhau hexan, diclorometan, cloroform, acetone, methanol và n-butanol. Dịch chiết cloroform chứa 40 alkaloid, 32 terpenoid, 5 steroid, 4 polyphenol, 4 peptid, 4 acetogenin. Dịch chiết hexan chứa 14 acetogenin, 3 lipid, 1 steroid và 1 terpenoid. Dịch chiết ethanol, ethyl acetat, n-butanol đều chỉ chứa 1 chất.

Mối liên quan giữa nhóm hóa học và bộ phận chiết xuất được trình bày trong **Hình 2**. Terpenoid phân bố nhiều ở quả, lá và thân lần lượt tương ứng 37, 7, 7 chất. Alkaloid phân bố chủ yếu ở thân, lá, quả tương ứng 28, 15 và 8 chất. Acetogenin tập trung ở hạt, lá, quả tương ứng 27, 11, 4 chất. Quả là bộ phận phân lập được nhiều hợp chất nhất (54 chất), chứa 37 terpenoid, 8 alkaloid. Hạt chứa rất nhiều acetogenin (27 chất). Thân cây chứa 2 nhóm hoá học chủ yếu là alkaloid (28 chất) và terpenoid (7 chất). Lá chứa chủ yếu là 15 alkaloid, 11 acetogenin, 7 terpenoid, 5 polyphenol.

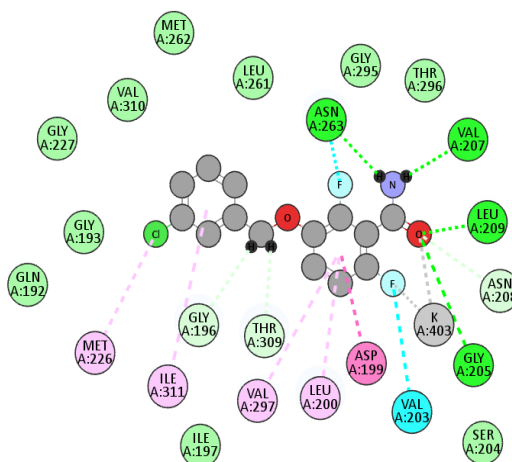
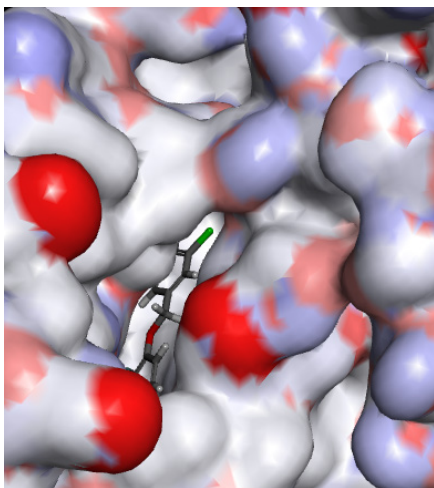


**Hình 2.** Bản đồ nhiệt giữa nhóm hóa học và bộ phận

### 3.2. Mô hình docking

Cấu trúc tinh thể được xóa nước, các phối tử GDP, MB3, EDO, còn giữ lại OM8 và K. Cấu trúc 6YD5 gồm có 307 acid amin bắt đầu từ Gly9 đến Phe315, không bị mất acid amin nào trong chuỗi. Tuy nhiên, các acid amin Gly9, Met11 khác với Asn9, Leu11 của

chuỗi FtsZ *Staphylococcus aureus*. Ngoài ra, cấu trúc này còn thiếu 83 acid amin gồm có Met1 -...-Phe8, Asp316-...- Arg390. Tuy nhiên, khoảng gần kết dị lập thể đầy đủ 23 acid amin từ Gln192 đến Ile311 (trái) và các tương tác với phối tử (phải) được minh họa ở Hình 3.



**Hình 3.** Khoảng gắn kết của 6YD5 và tương tác 2D với phối tử OM8

Các liên kết hydro xuất hiện giữa phối tử OM8 và FtsZ gồm có Val207 và N (trong nhóm CONH<sub>2</sub>), giữa Asn263 và N (trong nhóm CONH<sub>2</sub>), Leu209 và O (trong nhóm CONH<sub>2</sub>), Gly205 và O (trong nhóm CONH<sub>2</sub>). Các liên kết hydrophobic của vòng benzen có gần nhóm CONH<sub>2</sub> gồm có liên kết pi-alkyl với Leu200, Val297, liên kết amid - pi chồng phủ với Asp199. Các liên kết hydrophobic của vòng benzen có gần nhóm Cl gồm có liên kết pi-alkyl với Ile311, liên kết giữa Cl và Met226. Liên kết *Van Der Waals* xuất hiện giữa Gly196, Thr309 và C (-C-O). Liên kết halogen xuất hiện giữa F và Asn263, Val203. Ngoài ra còn có sự xuất hiện liên kết giữa K với O (trong nhóm CONH<sub>2</sub>) và F.

Kết quả redocking được trình bày ở **Bảng 1**. Kết quả RMSD của các phối tử (PT) đều nhỏ hơn 2 Å, đạt yêu cầu. Về điểm số docking, độ lệch chuẩn (SD) và độ lệch chuẩn tương đối (RSD) lần lượt là 0,22 và 0,81%. Như vậy, có thể thấy điểm số docking có sự thay đổi rất ít giữa 3 cấu dạng với quy trình chuẩn bị khác nhau của cùng một chất.

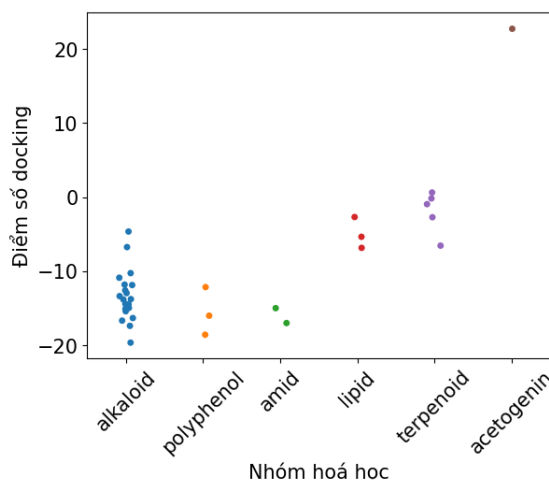
**Bảng 1.** Kết quả redocking

PT	Điểm số (kJ/mol)	RMSD (Å)
1	-25,88	0,63
2	-26,29	0,61
3	-25,81	0,55

Xem xét về mô thức gắn kết, cả 3 phối tử vẫn còn giữ lại liên kết hydro với Val207, Asn263, Leu209, không có liên kết Gly205 như trước khi docking. Các liên kết hydrophobic gần như không đổi giữa các PT1, PT2, PT3. PT3 có thêm liên kết hydrophobic giữa vòng benzen có chứa Cl và Leu200. Liên kết *Van Der Waals* của cả 3 PT xuất hiện giữa Gly196 và C (-C-O), không còn liên kết của Thr309. Liên kết halogen của cả 3 PT giữa F và Asn263, Val203, không thay đổi so với cấu trúc tinh thể phức hợp. Liên kết kim loại của cả 3PT đều giống nhau, giữa K với O (trong nhóm CONH<sub>2</sub>), không còn với F. Như vậy, có sự tương đồng về mô thức gắn kết của 3 phối tử và có thay đổi rất ít so với cấu trúc tinh thể phức hợp, vẫn đầy đủ liên kết hydrophobic, hydro, *Van Der Waals*, halogen, kim loại.

### 3.3 Phân tích dữ liệu sau khi docking

Từ 192 chất sưu tầm từ 25 bài báo chứa các cấu trúc hoá học của cây Bình bát, 52 chất bị loại bỏ do trùng lặp, còn lại 140 chất với trúc khác nhau được đưa vào quá trình docking. Kết quả đưa ra có 37 chất docking được, 103 chất thông báo không docking được. (-)-roemerolin là một alkaloid aporphin cho điểm số docking thấp nhất -19,7 kJ/mol. 2 chất blumenol A, annoglacin A cho điểm số docking dương (0,6 và 22,7 kJ/mol). Điểm số docking trung bình của cả 37 chất này là -10,2 kJ/mol.



**Hình 4.** Biểu đồ điểm số docking theo nhóm hoá học

Ba nhóm có điểm số docking đáng chú ý gồm alkaloid, polyphenol và amid (**Hình 4**).

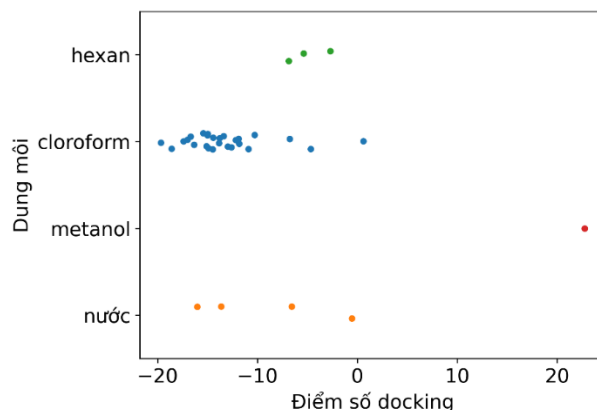
Nhóm alkaloid có chứa 21 chất có điểm số docking trải dài từ -19,7 đến -4,7 kJ/mol, trung bình -13,4 kJ/mol. 3 chất trong nhóm polyphenol điểm trung bình là -15,6 kJ/mol. 2 chất trong nhóm amid có điểm số trung bình là -16 kJ/mol. Các phân nhóm alkaloid gồm có aporphin, azaanthraquinon, protoberberin và isoquinolin, trong đó có phân nhóm aporphin có tới 16 chất, điểm số docking trung bình là -14,1 kJ/mol. Phân nhóm azaanthraquinon, protoberberine, điểm số docking trung bình lần lượt là -13,8 và -11,4 kJ/mol. Phân nhóm isoquinolin có điểm số docking các chất đều trên -10 kJ/mol.

Nhóm polyphenol có 3 chất với điểm số docking trung bình là -15,6 kJ/mol, trong đó có flavonoid quercetin -18,6 kJ/mol.

Nhóm amid có điểm số docking trung bình -16 kJ/mol, với chất N-p-coumaroyltyramin -17 kJ/mol. 2 nhóm còn lại terpenoid và acetogenin là những nhóm ít dữ liệu để phân tích và điểm số docking cũng cao hơn.

Dịch chiết cloroform chứa nhiều cấu trúc tiềm năng (**Hình 5**). Cụ thể hơn, dịch chiết cloroform có chứa 26 chất với điểm số docking trải dài từ -19,7 đến 0,6 kJ/mol, tập trung chủ yếu từ -20 đến -10 kJ/mol. Dịch chiết cloroform có chứa các nhóm hoá học alkaloid, amid và polyphenol. Dịch chiết nước chứa những cấu trúc đáng chú ý như acid 3,4-dihydroxybenzoic và icaricid D2 với điểm số docking lần lượt là -16 và -13,6 kJ/mol.

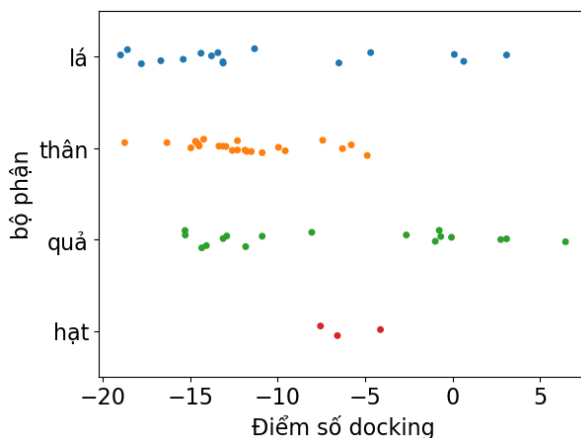




Hình 5. Biểu đồ điểm số docking theo dung môi

Điểm số docking của 44 cấu trúc (bao gồm các cấu trúc trùng nhau nhưng chiết xuất ở các bộ phận khác nhau) phân chia theo bộ phận chiết xuất được minh họa trong Hình 6. Thân, lá, quả có điểm số docking trung vị lần lượt là -13,3 ; -12,4; -8 kJ/mol. Lá có 15 chất, trong

đó alkaloid (-)-roemerolin có điểm số docking thấp nhất. Quả có acid 3,4-dihydroxybenzoic cho điểm số docking thấp nhất. Thân chứa R-(-)-norushinsunin là alkaloid với điểm số thấp nhất là -17,4 kJ/mol. Như vậy, các cấu trúc tiềm năng phân bố chủ yếu ở lá, thân, quả.



Hình 6. Biểu đồ điểm số docking theo bộ phận chiết xuất

#### 4. BÀN LUẬN

192 chất (bao gồm cả các chất giống nhau) từ 25 bài báo trong 8 nhóm hợp chất được xác định cấu trúc với cây Bình bát. Ba nhóm có số lượng chất nhiều nhất là terpenoid, alkaloid và acetogenin. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của tác giả Hien NTT và cộng sự, acetogenin, ent-kaurans, peptid và alkaloid là các nhóm hóa học chính trong cây Bình bát [2]. Ngoài ra, trong cây còn có các nhóm khác với ít cấu trúc đa dạng như polyphenol, steroid, amid, peptid, lipid.

Một số polyphenols như chrysopaentin, dẫn xuất của vanillin, curcumin có hoạt tính chống lại *E.coli* và ức chế hoạt động GTPase của FtsZ [33]. Sàng lọc dựa trên docking phân tử đã xác nhận rằng trong số 122 chất từ *Cinnamomum zeylanicum*,

*Punica granatum* và *Glycyrrhiza glabra*,  $\beta$ -sitosterol và glabrol cho thấy hoạt tính ức chế cao nhất đối với FtsZ và là chất kháng khuẩn lý tưởng [34].  $\beta$ -sitosterol là một steroid cũng hiện diện trong cây Bình bát. Tuy nhiên, dữ liệu thu thập được cho thấy có rất ít cấu trúc polyphenol cũng như steroid, trong khi các alkaloid lại có cấu trúc khá đa dạng. 21 cấu trúc alkaloid chủ yếu là alkaloid đa vòng của cây Bình bát có điểm số docking tương đối thấp. Hiện nay, một số alkaloid đa vòng đã được nghiên cứu cho thấy tác dụng ức chế FtsZ. Berberin, alkaloid kiểu protoberberin có thể ức chế sự hình thành vòng Z và quá trình tổng hợp FtsZ ở *E. coli* theo cách phụ thuộc vào liều lượng, làm giảm hoạt tính của GTPase trên *in vitro*. Ngoài ra, một số nghiên cứu cho thấy một số dẫn xuất berberin thể hiện

hoạt tính kháng khuẩn mạnh chống lại MRSA và VRE bằng cách nhắm mục tiêu FtsZ và ức chế sự phân chia tế bào [5]. Quá trình biến đổi hóa học của berberin với các nhóm thế 9-phenoxyalkyl dựa trên tổng hợp đã cải thiện đáng kể hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng thông qua việc nhắm mục tiêu FtsZ [35]. Một alkaloid đa vòng benzophenanthridin khác là sanguinarin, được chiết xuất từ *Sanguinaria canadensis*, có thể ngăn chặn quá trình phân chia tế bào, hình thành vòng Z và lắp ráp FtsZ trong tế bào *B. subtilis* và *E. coli*. Tuy nhiên, sanguinarin có thể ức chế quá trình trùng hợp tubulin của sinh vật nhân chuẩn, cho thấy một số độc tính đối với tế bào động vật có vú [5]. Một cách tương tự, Bình bát cũng có chứa những alkaloid đa vòng như aporphin, azaanthraquinon, protoberberin là những cấu trúc

tiềm năng ức chế FtsZ trong tự nhiên và cung cấp khung cấu trúc cho tổng hợp hoá dược.

## 5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Bình bát chứa ba nhóm hoá học tiêu biểu là terpenoid, alkaloid và acetogenin, cho nhiều hoạt tính thú vị như kháng khuẩn, kháng nấm, gây độc tế bào. Trong đó, alkaloid là cấu trúc tiềm năng trong tìm kiếm các hoạt chất ức chế FtsZ với tác dụng kháng khuẩn. Phân đoạn cloroform có chứa các nhóm hoá học alkaloid, amid và polyphenol là phân đoạn có thể cho tác dụng ức chế FtsZ tốt. Lá, thân, quả có thể sử dụng để chiết xuất. Các nghiên cứu *in vitro* về chiết xuất, làm giàu hoạt chất và thử tác dụng sinh học cần được tiến hành thêm để khẳng định lại hoạt tính kháng khuẩn của cây Bình bát.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chi VV. Từ điển Cây thuốc Việt Nam (Bộ mới). Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2018.
2. Hien NTT, Nhiem NX, Yen DTH, Hang DTT, Tai BH, Quang TH, et al. Chemical constituents of the *Annona glabra* fruit and their cytotoxic activity. *Pharm Biol*. 2015;53(11):1602-7.
3. Duy HT, Dũ LP, Thành NV. Khảo sát thành phần hoá học và khả năng kháng oxy hóa của các phân đoạn cao chiết lá già từ cây Bình bát nước (*Annona glabra* L.) *Tạp chí Khoa học & Công nghệ nông nghiệp*. 2020;4(1):1668-78.
4. Matsumoto S, Varela RM, Palma M, Molinillo JMG, Lima IS, Barroso CG, Macías FA. Bio-guided optimization of the ultrasound-assisted extraction of compounds from *Annona glabra* L. leaves using the etiolated wheat coleoptile bioassay. *Ultrason Sonochem*. 2014;21.
5. Han H, Wang Z, Li T, Teng D, Mao R, Hao Y, et al. Recent progress of bacterial FtsZ inhibitors with a focus on peptides. *The FEBS Journal*. 2020;288.
6. Tripathy S, Sahu SK. FtsZ inhibitors as a new genera of antibacterial agents. *Bioorg Chem*. 2019;91:103169.
7. Trang HXH, Hoai NT. Screening of potential inhibitor for FtsZ GTPase activity from plants collected in central of vietnam. *Journal of Medicine and Pharmacy*. 2019;11-6.
8. Gallardo T, Aragón R, Tormo J, Blázquez MA, Zafra-Polo MC, Cortes D. Acetogenins from *Annona glabra* seeds. *Phytochemistry*. 1998;47(5):811-6.
9. Chen C-H, Hsieh T-J, Liu T-Z, Chern C-L, Hsieh P-Y, Chen C-Y. Annoglabayin, a novel dimeric kaurane diterpenoid, and apoptosis in hep g2 cells of annomontacin from the fruits of *Annona glabra*. *J Nat Prod*. 2004;67(11):1942-6.
10. Lee S-S, Wu D-Y, Tsai S-F, Chen C-K. Anti-acetylcholinesterase alkaloids from *Annona glabra* leaf. *Nat Prod Commun*. 2015;10(6):1934578X1501000625.
11. Liu X, Tian F, Zhang H-B, Pilarinou E, McLaughlin JL. Biologically active blumenol A from the leaves of *Annona glabra*. *Natural Product Letters*. 1999;14(1):77-81.
12. Matsumoto S, Varela RM, Palma M, Molinillo JM, Lima IS, Barroso CG, Macías FA. Bio-guided optimization of the ultrasound-assisted extraction of compounds from *Annona glabra* L. leaves using the etiolated wheat coleoptile bioassay. *Ultrason Sonochem*. 2014;21(4):1578-84.
13. Tsai S-F, Lee S-S. Characterization of acetylcholinesterase inhibitory constituents from *Annona glabra* assisted by HPLC microfractionation. *J Nat Prod*. 2010;73(10):1632-5.
14. Hsieh TJ, Wu YC, Chen SC, Huang CS, Chen CY. Chemical constituents from *Annona glabra*. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2004;51(4):869-76.
15. Chang FR, Chen CY, Hsieh TJ, Cho CP, Wu YC. Chemical constituents from *Annona glabra* III. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2000;47(4B):913-20.
16. Sun L, Zhu J, Yu J, Yu D, Li D, Zhou L. Chemical constituents from the seeds of *Annona glabra* (Annonaceae). *Acta Pharmaceutica Sinica*. 2003;38(1):32-6.
17. Hien NTT, Nhiem NX, Yen DTH, Hang DTT, Tai BH, Quang TH, et al. Chemical constituents of the *Annona glabra* fruit and their cytotoxic activity. *Pharm Biol*. 2015;53(11):1602-7.
18. Li C-M, Tan N-H, Zheng H-L, Mu Q, Hao X-J, He Y-N, Zhou J. Cyclopeptides from the seeds of *Annona glabra*. *Phytochemistry*. 1999;50(6):1047-52.
19. Kiêm PV, Hiền NTT, Yến PH, Dung DT, Hằng ĐTT, Nhiem NX, et al. Các hợp chất diterpenoit phân lập từ quả cây na biển (*Annona glabra*)(Phần 1). *Vietnam Journal of Chemistry*. 2015;53(3):390-3.
20. Kiêm PV, Hiền NTT, Hằng ĐTT, Dung DT, Cúc NT, Yến DTH, et al. Các hợp chất diterpenoit phân lập từ quả loài na biển (*Annona glabra*)(Phần 2). *Vietnam Journal of Chemistry*. 2015;53(4):526-30.
21. Liu X-X, Alali FQ, Hopp DC, Rogers LL, Pilarinou E, McLaughlin JL. Glabracins A and B, two new acetogenins from *Annona glabra*. *Bioorg Med Chem*. 1998;6(7):959-65.

22. Liu X-X, Alali FQ, Pilarinou E, McLaughlin JL. Glacins A and B: Two Novel Bioactive Mono-tetrahydrofuran Acetogenins from *Annona glabra*. J Nat Prod. 1998;61(5):620-4.
23. Trinh PTN, Le Tien D, Nhung ĐTC. Hợp chất diterpenoid và flavonoid từ lá bình bát nước *Annona glabra* L.(Anonaceae). Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ. 2014(32):125-7.
24. Wu T-Y, Yang I-H, Tsai Y-T, Wang J-Y, Shiurba R, Hsieh T-J, et al. Isodesacetylvaricin, an annonaceous acetogenin, specifically inhibits gene expression of cyclooxygenase-2. J Nat Prod. 2012;75(4):572-6.
25. 大澤貫寿, 阿津沢新二, 満井喬, 山本出. Isolation and insecticidal activity of three acetogenins from seeds of pond apple, *Annona glabra* L. Journal of Pesticide Science. 1991;16(1):93-6.
26. Nhiem NX, Hien NTT, Tai BH, Anh HLT, Hang DTT, Quang TH, et al. New ent-kauranes from the fruits of *Annona glabra* and their inhibitory nitric oxide production in LPS-stimulated RAW264. 7 macrophages. Bioorg Med Chem Lett. 2015;25(2):254-8.
27. Liu X-X, Pilarinou E, McLaughlin JL. Pondaplin: A novel cyclic prenylated phenylpropanoid from *Annona glabra*. Tetrahedron Lett. 1999;40(3):399-402.
28. Liu X-X, Pilarinou E, McLaughlin JL. Two novel acetogenins, annoglaxin and 27-hydroxybullatacin, from *Annona glabra*. J Nat Prod. 1999;62(6):848-52.
29. Liu X-X, Alali FQ, Pilarinou E, McLaughlin JL. Two bioactive mono-tetrahydrofuran acetogenins, annoglacins A and B, from *Annona glabra*. Phytochemistry. 1999;50(5):815-21.
30. Pino JA, Marbot R, Agüero J. Volatile components of *baga* (*Annona glabra* L.) fruit. Journal of Essential Oil Research. 2002;14(4):252-3.
31. Le Tuan Anh H, Hien NTT, Hang DTT, Ha TM, Nhiem NX, Hien TTT, et al. Ent-kaurane diterpenes from *Annona glabra* and their cytotoxic activities. Nat Prod Commun. 2014;9(12):1934578X1400901204.
32. Chen C-Y, Chang F-R, Cho C-P, Wu Y-C. ent-Kaurane diterpenoids from *Annona glabra*. J Nat Prod. 2000;63(7):1000-3.
33. Silber N, Matos de Opitz CL, Mayer C, Sass P. Cell division protein FtsZ: from structure and mechanism to antibiotic target. Future Microbiol. 2020;15:801-31.
34. Mishra CR, Kumari R, Yadav S, Yadav PJ. Target Based Virtual Screening of New Leads Inhibitor against Bacterial Cell Division Protein FtsZ for the Discovery of Antibacterial Agents. Medicinal Chemistry. 2020;16(2):169-75.
35. Sun N, Chan FY, Lu YJ, Neves MA, Lui HK, Wang Y, et al. Rational design of berberine-based FtsZ inhibitors with broad-spectrum antibacterial activity. PLoS One. 2014;9(5):e97514.