

**ĐẠI HỌC QUỐC GIA TP. HỒ CHÍ MINH
TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA**

NGUYỄN QUỐC THÁI

**NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG ĐIỀU TRỊ BỆNH ALZHEIMER CỦA CÁC
HỢP CHẤT TIỀM NĂNG DỰA TRÊN MÔ PHỎNG BẰNG MÁY TÍNH**

Chuyên ngành: **VẬT LÝ KỸ THUẬT - VẬT LÝ TÍNH TOÁN**
Mã số chuyên ngành: 62520401

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

TP. HỒ CHÍ MINH - NĂM 2021

Công trình được hoàn thành tại **Trường Đại học Bách Khoa – ĐHQG-HCM**

Người hướng dẫn 1: GS. TSKH. Mai Xuân Lý

Người hướng dẫn 2: PGS. TS. Huỳnh Quang Linh

Phản biện độc lập 1:

Phản biện độc lập 2:

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án họp tại

.....
.....

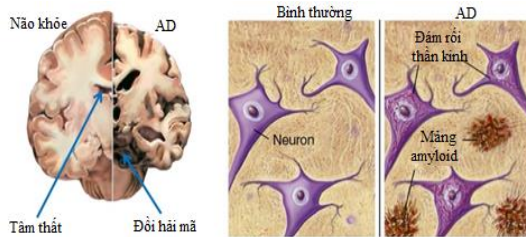
vào lúc giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

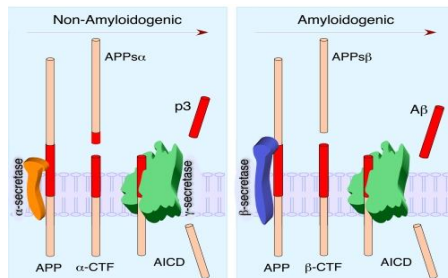
- Thư viện Trường Đại học Bách Khoa – ĐHQG-HCM
- Thư viện Đại học Quốc gia Tp.HCM
- Thư viện Khoa học Tổng hợp Tp.HCM

1. GIỚI THIỆU

Bệnh Alzheimer (AD) là một bệnh phổ biến liên quan đến thần kinh. Các nguyên nhân của AD có thể là mất cân bằng tế bào, mất cân bằng gen, và mất cân bằng phân tử. Qua nhiều thập niên, các nhóm nghiên cứu đã cố gắng tìm thuốc chữa AD nhưng không thành công vì cơ chế gây AD vẫn chưa được sáng tỏ. Có khoảng 20 giả thuyết liên quan đến cơ chế gây AD, nhưng tập trung chủ yếu vào ba giả thuyết chính: giả thuyết cholinergic, giả thuyết tau và giả thuyết amyloid. Trong đó, giả thuyết amyloid liên quan đến sự mất cân bằng phân tử, là được quan tâm nhiều nhất. Giả thuyết này cho rằng quá trình ngưng tụ của amyloid beta ($A\beta$) (Hình 1.1) là nguyên nhân chính gây ra AD. Mỗi chuỗi $A\beta$ có 36-43 amino acids và được hình thành bằng cách cắt APP (Amyloid Precursor Protein) bởi các enzyme β -secretase và γ -secretase (Hình 1.2). Do đó, phương pháp điều trị AD có thể là ngăn chặn sự hình thành $A\beta$ và ức chế hoạt động của $A\beta$.



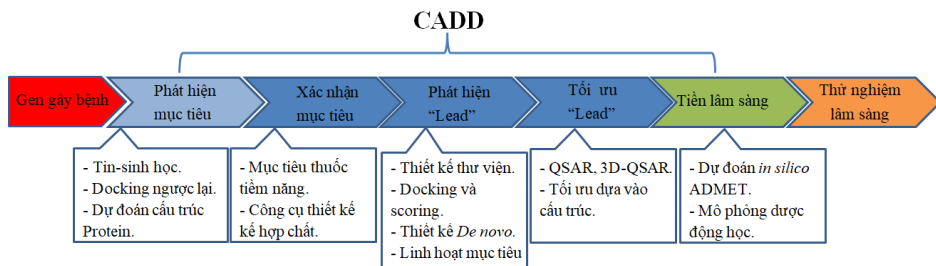
Hình 1.1. Mặt cắt não người bình thường và não của người mắc AD (bên trái), và mảng amyloid và đám rối sợi thần kinh (bên phải)



Hình 1.2. APP bị cắt ra bởi các enzym α -secretase, β -secretase và γ -secretase theo hai lộ trình chính: non-amyloidogenic và amyloidogenic

Bên cạnh đó, có nhiều gen gây nguy hiểm làm mất cân bằng gen, làm tăng nguy cơ phát triển bệnh AD như gen Apolipoprotein E (ApoE), được thể hiện bởi các protein thụ thể nhân: PPAR (alpha, beta/delta, gamma) và LXR (alpha, beta). Đây là các mục tiêu cho các thuốc tấn công nhằm điều trị AD.

Khoa học và công nghệ nên việc khám phá thuốc mới đã làm giảm chi phí, rút ngắn thời gian. Khám phá thuốc bằng máy tính (CADD) là quá trình tìm các hợp chất tiềm năng từ các ngân hàng hợp chất làm ứng viên thuốc (Hình 1.3). Có nhiều dược phẩm đã được điều chế thành công bằng con đường kết hợp giữa mô phỏng bằng máy tính và thực nghiệm như thuốc Dorzolamide, Zanamivir, Sildenafil (VIAGRA), hay thuốc Amprenavir.



Hình 1.3. Sự đóng góp của CADD vào quá trình nghiên cứu thuốc mới

Tuy đạt được một số kết quả như sàng lọc được các hợp chất tiềm năng điều trị AD như Dihydrochalcone, Dracorubin, Taraxerol, Taraxasterol, Hinokiflavone và Diosgenin nhưng cho đến hôm nay vẫn chưa điều chế được thuốc điều trị AD với sự trợ giúp của máy tính hay bằng những phương pháp khác. Tuy nhiên, khám phá và nghiên cứu thuốc mới với sự hỗ trợ của máy tính vẫn được cộng đồng khoa học quan tâm mạnh mẽ.

Do đó, trong luận án này đề ra các mục tiêu nghiên cứu cụ thể như sau:

a) Sàng lọc các hợp chất tiềm năng nhằm ức chế sợi A β (đơn mục tiêu) bằng cách kết hợp quy tắc Lipinski với phương pháp mô phỏng và cơ sở dữ liệu PubChem. So sánh kết quả phương pháp mô phỏng với thực nghiệm *in vitro*. Kết quả so sánh là tiền đề cho việc đánh giá khả năng điều trị AD.

b) Từ cơ sở dữ liệu PubChem tìm ra các chất có thể tấn công đồng thời nhiều mục tiêu: sợi A β , PPAR γ , LXR α , β -secretase và γ -secretase. Sử dụng phương pháp mô phỏng động lực học toàn nguyên tử để xác định năng lượng liên kết tự do của các hợp chất tiềm năng nhất với các mục tiêu gây AD. So sánh kết quả mô phỏng cho năng lượng liên kết tự do với nồng độ ức chế tối đa một nửa (IC50) đo được bằng thực nghiệm.

c) Năm 2012, Cramer và các cộng sự đã cho rằng bexarotene có tác dụng tích cực cho việc điều trị AD trên chuột. Sau khi nghiên cứu này được công bố,

nhiều nhóm trên thế giới đã nghiên cứu và đánh giá khả năng điều trị AD của bexarotene, bằng phương pháp thực nghiệm *in vivo* cùng với mô phỏng nhưng kết quả của các nhóm khác nhau nhiều khi trái ngược nhau. Vì các kết quả còn gây nhiều tranh cãi, mô phỏng động lực học phân tử được sử dụng để xác định khả năng thực sự của bexarotene trong điều trị AD.

d) Về phương pháp luận, đưa ra một sơ đồ hiệu quả hơn để sàng lọc chất tiềm năng từ các cơ sở dữ liệu lớn. Cụ thể là trong sơ đồ nhiều bước, mô phỏng động lực học phân tử định hướng được đưa vào bước cuối.

2. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN VÀ PHÂN TÍCH

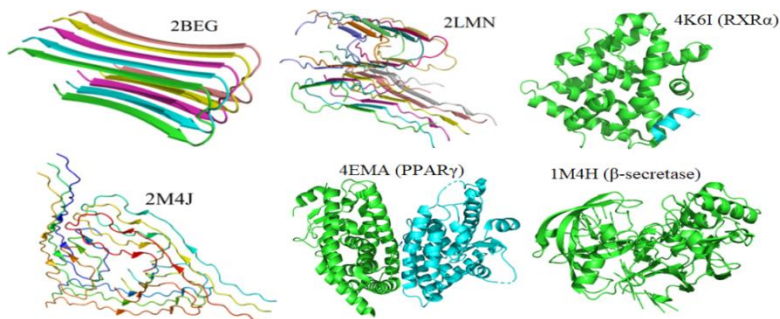
2.1 Đối tượng nghiên cứu và vật liệu nghiên cứu

2.1.1 Đối tượng nghiên cứu

Sàng lọc ảo các hợp chất tiềm năng từ ngân hàng PubChem cho một hoặc nhiều mục tiêu gây AD. Sau đó nghiên cứu khả năng ức chế các mục tiêu gây AD của các hợp chất tiềm bằng phương pháp *in silico* và thực nghiệm *in vitro*. Nghiên cứu tương tác giữa bexarotene và $A\beta$ và khả năng của hợp chất này trong việc điều trị AD thông qua ức chế quá trình tích tụ của $A\beta$. Về mặt phương pháp, để đẩy nhanh quá trình sàng lọc ảo, nhóm nghiên cứu đề xuất đưa phương pháp mô phỏng động lực học định hướng vào sơ đồ sàng lọc.

2.1.2 Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu chính là mục tiêu dạng sợi (fibril) được tạo bởi các peptide $A\beta_{17-42}$ (2BEG), $A\beta_{9-40}$ (2LMN) và $A\beta_{1-40}$ (2M4J) (Hình 2.1). Lưu ý là $A\beta_{17-42}$ và $A\beta_{9-40}$ là peptide bị chặt cụt bởi 16 và 8 amino axit không trật tự ở đầu N. Bên cạnh còn có các mục tiêu gây AD: enzym β -secretase (BACE-1), γ -secretase, $PPAR\gamma$, $LXR\alpha$.



Hình 2.1. Cấu trúc sợi $5A\beta_{17-42}$ (2BEG), cấu trúc sợi $A\beta_{1-40}$ (2LMN, 2M4J), β -secretase, $PPAR\gamma$, $LXR\alpha$.

Trong luận án này sử dụng ngân hàng hợp chất PubChem để sàng lọc ra các hợp chất tiềm năng nhằm ức chế các mục tiêu gây AD vì có nhiều ưu điểm so với các cơ sở dữ liệu khác như được nhiều nhà nghiên cứu sử dụng.

2.1.3 Phương tiện nghiên cứu

Để thực hiện mô phỏng, các phần mềm được sử dụng trong luận án là phần mềm Gromacs 5.01, Gromacs 2018, Autodock Tool 1.5.4, Autodock Vina phiên bản 1.1, Pymol 2.4.1. Các phần mềm này được cài trên hệ thống máy tính của Viện khoa công nghệ và tính toán (gold.icst.org.vn, rice.icst.org.vn, và banana.icst.org.vn).

Để tiến hành thực nghiệm in vitro, nhóm nghiên cứu kết hợp với các nhóm thực nghiệm ở Đài Loan, Slovakia.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Tương tác của mục tiêu và phối tử có thể nghiên cứu bằng phương pháp docking, mô phỏng MD, với mô hình nước SPC kết hợp trường lực GROMOS, mô hình nước TIP3P kết hợp trường lực AMBER trong gói phần mềm Gromacs 5.1 và Amber 11.

2.2.1 Mô phỏng động lực học phân tử

Có nhiều FF (force field-trường lực) khác nhau nhưng hầu hết FF được diễn tả bởi các thế năng như sau:

$$E = E_{\text{bonded}} + E_{\text{nonbonded}} \quad (3.1)$$

trong đó E_{bonded} là tương tác liên kết, $E_{\text{nonbonded}}$ là tương tác không liên kết, trong đó tương tác van der Waals và tương tác tĩnh điện có vai rất quan trọng.

2.2.1.1 Động lực học Langevin

Phương trình động lực học Langevin có dạng sau:

$$m \frac{d^2r}{dt^2} = F_C - \gamma \frac{dr}{dt} + \Gamma \equiv F \quad (3.2)$$

γ là hệ số ma sát của môi trường, m là khối lượng của hạt và $F_C = -dE/dr$. F_C là lực tác dụng lên nguyên tử gây ra bởi các thế năng tương tác, E được tính theo công thức (3.1). Lực ngẫu nhiên Γ của môi trường tác động lên phân tử và lực này liên quan đến chuyển động nhiệt hỗn loạn.

2.2.1.2 Thuật toán nhảy cóc (leap-frog)

Thuật toán mặc định trong mô phỏng động lực học phân tử của gói Gromacs và Amber là thuật toán nhảy cóc (leap-frog) dùng để giải phương trình động lực học Langevin (3.2).

2.2.2 Mô phỏng động lực học phân tử trong gói phần mềm Gromacs

Để thực hiện mô phỏng động lực học phân tử, chúng tôi sử dụng gói chương trình GROMACS 5.01, AMBER 11 với trường lực GROMOS và AMBER với mô hình nước SPC và TIP3P tương ứng.

2.2.3 Phương pháp *in silico* tính toán liên kết protein-phối tử

2.2.3.1 Mối quan hệ giữa năng lượng liên kết tự do và nồng độ ức chế

Mối quan hệ giữa năng lượng liên kết tự do (ΔG_{bind}) và nồng độ ức chế tối đa một nửa ($IC50$) hoặc hằng số ức chế (K_i) được biểu diễn theo công thức sau:

$$\Delta G_{\text{bind}} = RT \ln(K_i) = RT \ln(IC50), \quad (3.3)$$

trong đó, hằng số $R = 1.989 \text{ cal.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $T = 300 \text{ K}$ là nhiệt độ, và K_i (Mole).

2.2.3.2 Phương pháp docking

Theo phương pháp docking, hàm chấm điểm là năng lượng liên kết, ΔE_{bind} , thu được từ cấu hình ổn định nhất của thụ thể và phối tử.

2.2.3.3 Phương pháp động lực học phân tử định hướng (SMD)

Trong phương pháp SMD, lực phá vỡ liên kết (rupture force) giữa mục tiêu và phối tử, F_{max} , càng lớn khả năng liên kết càng mạnh hoặc công không cân bằng, W_{pull} , được sử dụng như một hàm chấm điểm để xếp hạng ái lực liên kết và được xác định theo biểu thức toán học như sau:

$$W_{\text{pull}} = \int_0^{x_{\text{max}}} \vec{F} \cdot d\vec{x} \approx \sum_1^{N_{\text{step}}} \frac{(F_{i+1} + F_i)}{2} (x_{i+1} - x_i) \quad (3.4)$$

trong đó, N_{step} là tổng số bước đã thực hiện trong suốt quá trình mô phỏng.

2.2.3.4 Phương pháp cơ học phân tử Poisson-Boltzmann diện tích bề mặt

Theo phương pháp cơ học phân tử Poisson-Boltzmann diện tích bề mặt (MM-PBSA), năng lượng liên kết tự do, ΔG_{bind} , của phối tử và thụ thể được xác định bằng công thức như sau:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta E_{\text{elec}} + \Delta E_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{sur}} + \Delta G_{\text{PB}} - T\Delta S \quad (3.5)$$

trong đó, ΔE_{vdw} , ΔE_{elec} là tương tác van der Waals và tương tác tĩnh điện. ΔG_{sur} là năng lượng không phân cực, ΔG_{PB} là năng lượng phân cực. ΔS là độ biến thiên entropy, được xác định bằng phương pháp gần đúng normal mode hoặc phương pháp dựa trên năng lượng tương tác trong suốt quá trình mô phỏng.

2.2.4 Quy tắc Lipinski và hàng rào máu não (BBB)

2.2.4.1 Quy tắc Lipinski

Theo quy tắc Lipinski hợp chất có các đặc tính của thuốc phải thỏa mãn các điều kiện sau: khối lượng phân tử từ 0 đến 500 Da, xlogP từ 0 đến 5, số liên kết cho hydrogen từ 0 đến 5, và số liên kết nhận hydrogen từ 0 đến 10.

2.2.4.2 Hàng rào máu não

$\log(\text{BB})$ được dùng để mô tả khả năng xuyên qua hàng rào máu não và được xác định bằng công thức sau:

$$\log(\text{BB}) = \log_{10} \left[\frac{C_{\text{brain}}}{C_{\text{blood}}} \right] \quad (3.6)$$

trong đó, lô-ga-rít cơ số 10 (\log_{10}) của tỉ số nồng độ phối tử trong não (C_{brain}) và nồng độ phối tử trong các bộ phận phía dưới não (C_{blood}).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Ứng dụng phương thức sàng lọc nhanh hợp chất tiềm năng đa thụ thể cho bệnh Alzheimer

3.1.1 Giới thiệu

Việc thiết kế ứng viên thuốc tiềm năng với sự hỗ trợ máy tính bao gồm các bước liên hệ chặt chẽ với nhau. Mô phỏng động lực học phân tử được xem là mất thời gian nhiều nhất. Trong phần nghiên cứu này đề xuất giải pháp ứng dụng phương pháp SMD thay thế cho phương pháp MM-PBSA trong bước cuối của sàng lọc. Kết quả SMD của các hợp chất sàng lọc phải liên kết tốt hơn các hợp chất đối chứng trên cùng một thụ thể. Cụ thể là có F_{max} hoặc W_{pull} lớn hơn F_{max} hoặc W_{pull} của các hợp chất đối chứng.

Sàng lọc các ứng viên hợp chất tiềm năng từ ngân hàng hợp chất PubChem, có khoảng 1.4 triệu hợp chất, được tiến hành như sau: qui tắc Lipinski, mô phỏng docking, $\log(\text{BB})$, phương pháp SMD và dữ liệu thực nghiệm của các hợp chất tham chiếu. Kết quả sàng lọc được hai hợp chất CID 16040294 và CID 9998128 là ứng viên tiềm năng nhất cho các mục tiêu: sợi A β , β -secretase, γ -secretase, PPAR γ và LXR α . Bên cạnh đó, bằng phương pháp MMPB-SA kiểm chứng các ứng viên tiềm năng với thụ thể AChE.

3.1.2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

3.1.2.1 Đối tượng nghiên cứu

Sử dụng qui tắc Lipinski để lọc những hợp chất có đặc điểm giống như thuốc. Kết quả thu được 5372 hợp chất.

Cấu trúc sợi của đoạn A β_{11-42} với PDB ID là 2MXU, PPAR γ (4EMA), RXR α (4K6I), γ -secretase (4Y6K), β -secretase (1M4H), AChE (1H22). Bảng 4.1 cho thấy, các hợp chất đầu có công không cân bằng lớn các hợp chất đối chứng. Năng lượng liên kết tự do được tính thông qua hằng số ức chế (K_i) theo công thức $\Delta G_{\text{exp}} = RT \ln(K_i)$ và ΔE_{bind} được tính bằng phương pháp docking.

Bảng 4. 1. Hằng số ức chế (K_i) của các hợp chất đối chứng cho các thụ thể. Năng lượng liên kết tự do được ước lượng theo công thức $\Delta G_{exp} = RT \ln(K_i)$, trong đó $R=1.987 \times 10^{-3}$ kcal/mol, $T=300$ K, và K_i được xác định theo M .

Thụ thể	Phối tử	K_i (nM)	ΔG_{exp} (kcal/mol)	ΔE_{bind} (kcal/mol) docking
Sợi A β (2MXU)	Curcumin	0.2	-13.3	-7.2
β -secretase (1M4H)	71548079	0.03	-14.4	-8.9
γ -secretase (4Y6K)	44354431	0.49	-12.7	-8.5
PPAR γ (4EMA)	18944089	0.4	-12.9	-8.3
RXR α (4K6I)	Bexarotene	14	-10.8	-12.6
AChE (1H22)	10107976	0.03	-14.4	-9.5

3.1.3 Phương pháp nghiên cứu

3.1.3.1 Phương pháp Docking

Sử dụng Autodock Vina version 1.1 với tham số “*exhaustiveness*” bằng 600. Kích thước hộp của A β là 7.4x4.6x5.6 nm. Kích thước 4.0x4.0x4.0 nm (1M4H), 1.6x1.6x1.4 nm (4Y6K), 2.0x1.6x1.6 nm (4K6I), và 1.6x1.8x2.0 nm (4EMA).

3.1.3.2 Mô phỏng động lực học phân tử (MD)

Mô phỏng động lực học phân tử với trường lực AMBER-f99SB-ILDN kết hợp với mô hình nước TIP3P. Để trung hòa hệ, các ion Na⁺ được thêm vào các hệ. 12(2MXU), 9(1M4H), 8(4EMA), 1(4Y6K), 6(4K6I) và 5(1H22).

Phương pháp SMD: Các tham số cho phương pháp SMD được trình bày tương tự trong chương 3. Kích thước của các hộp được liệt kê trong Bảng 4.2.

Bảng 4. 2. Kích thước hộp dùng trong mô phỏng SMD cho tất cả thụ thể

Thụ thể	Kích thước hộp
Sợi A β (2MXU)	10.1x8.4x18.5
β -secretase (1M4H)	4.6x8.4x15.4
γ -secretase (4Y6K)	7.1x7.2x11.6
PPAR γ (4EMA)	7.7x6.7x11.1
RXR α (4K6I)	6.7x6.8x10.7
AChE (1H22)	8.3x7.5x12.1

Phương pháp MM-PBSA được trình bày chi tiết ở phần 3.

3.1.4 Kết quả và thảo luận

3.1.4.1 Hiệu quả của phương thức mới trong sàng lọc in silico

Phương pháp SMD cho thấy rằng công không cân bằng W_{pull} lớn hơn sẽ liên kết mạnh hơn. Vì thế, chọn những hợp chất có W_{pull} lớn hơn hợp chất đối chứng.

3.1.4.2 Kết quả mô phỏng

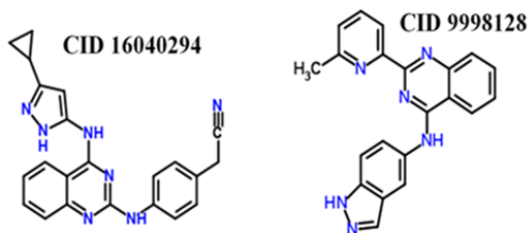
a) Kết quả docking, hàng rào máu não

Đối với 2MXU năng lượng liên kết biến đổi từ -1.4 đến -11.9 kcal/mol, trong khi $-1.2 \leq \Delta E_{bind} \leq -11.3$ kcal/mol (1M4H), $-1.3 \leq \Delta E_{bind} \leq -9.8$ kcal/mol (4Y6K), $-1.4 \leq \Delta E_{bind} \leq -10.6$ kcal/mol (4EMA), và $-1.0 \leq \Delta E_{bind} \leq -10.6$ kcal/mol (4K6I). Năng lượng tự do liên kết của thuốc vào thụ thể là $-9 \div -8$ kcal/mol tương ứng với hằng số ức chế $K_i \sim \mu\text{M}$. Với điều kiện $\Delta E_{bind} < -8.0$ kcal/mol, thu được số hợp chất: 792, 834, 1417, 540, và 121 lần lượt tương ứng với các thụ thể 2MXU, 4K4I, 1M4H, 4EMA, và 4Y6K.

Khả năng vượt màng não của các hợp chất được trình bày trong chương 3. Kết quả thu được 10 hợp chất tốt nhất.

b) Kết quả SMD

Với mục tiêu sợi A β (2MXU), CID 16040294 thu được $W_{pull} = 82$ kcal/mol, là lớn nhất, và hợp chất đối chứng Curcumin xếp hạng thứ 8. Với thụ thể PPAR γ (4EMA), với 5 hợp chất với W_{pull} lớn hơn hợp chất đối chứng CID 18944089. Với thụ thể RXR α (4K6I), hợp chất 9998128 và 6419766 tốt hơn Bexarotence. Đối với thụ thể β -secretase (1M4H), có hai hợp chất liên kết tốt hơn hợp chất đối chứng 71548079. Với thụ thể γ -secretase (4Y6K), có 5 hợp chất tốt hơn hợp chất đối chứng 44354431.



Hình 4. 1. Cấu trúc 2D của CID 9998128 và CID 16040294

c) Dự đoán các hợp chất dẫn đầu

Hợp chất 9998128 có W_{pull} lớn hơn các hợp chất đối chứng cho 5 mục tiêu. Trong khi đó, hợp chất 16040294 cũng có W_{pull} lớn hơn các hợp chất đối chứng

cho các mục tiêu, ngoại trừ mục tiêu RXR α . Cấu trúc 2D của CID 9998128 và CID16040294, hai hợp chất dẫn đầu, được trình bày trong hình 4.2 và bảng 4.3.

d) Tương tác vdW của các hợp chất dẫn đầu với đa thụ thể

Nhìn chung, trị tuyệt đối của tương tác vdW lớn hơn trị tuyệt đối của tương tác tĩnh điện cho tất cả các hệ. Vì thế, tương tác vdW đóng vai trò quan trọng hơn tương tác tĩnh điện trong năng lượng liên kết của hai hợp chất dẫn đầu và các hợp chất đối chứng vào các thụ thể.

Bảng 4. 3. Công không cân bằng của hai ứng viên thuốc cho 6 mục tiêu

CID dẫn đầu	Công không cân bằng (kcal/mol)					
	4EMA	2MXU	1M4H	4K6I	4Y6K	1H22
16040294	108.7	82.0	114.5	102.3	87.8	134.5
9998128	91.7	61.7	112.7	147.3	77.3	110.3

e) Ái lực liên kết của các hợp chất dẫn đầu với Acetylcholinesterase: mô phỏng SMD và MM-PBSA

Bằng phương pháp MM-PBSA, tính năng lượng liên kết tự của CID 16040294, CID 9998128 với thụ thể AChE.

Bảng 4.4 cho thấy rằng CID 16040294 và 9998128 liên kết rất tốt với thụ thể AChE. Tương tác vdW đóng vai trò quan trọng hơn so với tương tác tĩnh điện, trong khi đó đóng góp của các tương tác còn lại là gần bằng nhau.

Bảng 4. 4 Năng lượng liên kết tự do ΔG_{bind} (kcal/mol) của các hợp chất dẫn đầu với AChE

CID	ΔE_{elec}	ΔE_{vdW}	ΔG_{PB}	ΔG_{sur}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
16040294	-16.43	-50.64	29.02	-6.55	18.04	-26.57
9998128	-13.20	-44.18	28.59	-6.41	12.91	-22.30

3.1.5 Kết luận: Ứng dụng phương thức sàng lọc nhanh hợp chất tiềm năng đa thụ thể cho bệnh Alzheimer

Bằng phương pháp SMD, kết quả nghiên cứu đã xếp hạng các phối tử dựa vào công không cân bằng, kết quả được so sánh với công không cân bằng của các hợp chất đối chứng có hằng số ức chế bằng thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu trong phần này là sàng lọc được hai hợp chất tiềm năng nhất cho đa mục tiêu của AD: CID 16040294 và CID 9998128. Kết quả tương tác vdW vượt trội so với tương tác tĩnh điện của hai hợp chất này với đa mục tiêu.

3.2 CID 9998128 là hợp chất tiềm năng đa thụ thể cho bệnh Alzheimer

3.2.1 Giới thiệu

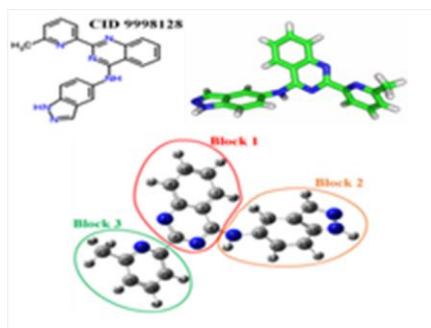
Trong nghiên cứu trước (N. Q. Thai *et al*, *J. Mol. Graph. Model.*, vol. 77, pp. 121-129, 2017), nhóm nghiên cứu đã sàng lọc được hai hợp chất CID 16040294 (GVD) và CID 9998128 (Q128), có khả năng bám tốt vào 6 các mục tiêu, bao gồm: sợi A β , peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ), retinoic X receptor α (RXR α), β -secretase, γ -secretase, và Acetylcholinesterase (AChE).

Trong phần này tập trung nghiên cứu hợp chất Q128 và tương tác của nó với sợi A β_{42} và BACE1 thông qua thực nghiệm *in vitro* và *in silico*.

3.2.2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

3.2.2.1 Mô phỏng phân tử

Phối tử và những thụ thể: Để làm sáng tỏ cơ chế tương tác của Q128 với các cấu trúc A β , Q128 được chia thành 3 dãy cấu trúc (block) (Hình 4.3): indazole (block 2), quinazoline (block 1) và methylpyridine (block 3). Sợi A β_{42} được lấy từ PDB với mã 2MXU và 2NAO. Cấu trúc tinh thể của β -secretase với mã PDB: 1M4H.



Hình 4.3. Cấu trúc 2D và 3D của Q128 (CID 9998128). Cấu trúc của Q128 được chia thành 3 dãy (block)

Mô phỏng động lực học phân tử: Thực hiện mô phỏng bằng trường lực AMBER-f99SB-ILDN với mô hình nước TIP3P. Để trung hòa các hệ, ion Na được thêm vào các hệ: hệ 2MXU với 12 ion Na, 2NAO với 18 ion Na, và 9 ion Na đối với hệ 1M4H. Năng lượng liên kết tự do ΔG_{bind} được xác định bằng phương pháp MM-PBSA được trình bày chi tiết ở chương 3.

3.2.2.2 Thực nghiệm

Beta Amyloid (1-42) peptide (A β_{42} peptide) được mua từ công ty rPeptide

(USA), β -secretase (BACE-1). FRET Assay Kit thu được từ Pan Vera's, WI, USA. Hydrochloric acid, Thioflavin T (ThT), dimethyl sulfoxide (DMSO) and hexafluoroisopropanol (HFIP) mua từ Sigma Aldrich (USA). Để nghiên cứu hợp chất Q128 (N-(1H-indazol-5-yl)-2-(6-methylpyridin-2-yl) quinazolin-4-amine (CID 9998128), được mua từ Ottawa Chemicals (Canada).

3.2.3 Kết quả và thảo luận

3.2.3.1 Mô phỏng docking

Phương pháp mô phỏng docking cho năng lượng liên kết là -9.7 kcal/mol (2MXU + Q128) và -9.8 kcal/mol (1M4H + Q128).

3.2.3.2 Kết quả MM-PBSA

a) Xác định năng lượng liên kết tự do

Giá trị trung bình năng lượng liên kết tự do của 4 quỹ đạo cho sợi $A\beta_{11-42}$ (2MXU) và $A\beta_{1-42}$ (2NAO) gần bằng nhau. Nhưng năng lượng liên kết tự do của các sợi $A\beta$ thì thấp hơn một chút so với thụ thể β -secretase, có giá trị $\Delta G_{\text{bind}} \approx -18.8$ kcal/mol. Kết quả của phương pháp MM-PBSA cũng khẳng định rằng Q128 liên kết tốt với cả sợi $A\beta$ cũng như β -secretase (Bảng 5.1).

Bảng 5. 1 Năng lượng liên kết tự do của Q128 với sợi bị cắt (2MXU), sợi đầy đủ (2NAO), và β -secretase (1M4H).

Q128	ΔE_{ele}	ΔE_{vdw}	ΔG_{PB}	ΔG_{sur}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
2MXU	-7.4 ± 0.8	-43.2 ± 2.7	26.6 ± 2.2	-6.0 ± 0.3	7.7 ± 1.1	-22.4 ± 0.6
2NAO	-9.1 ± 1.2	-38.9 ± 5.0	21.6 ± 4.9	-5.4 ± 0.6	8.4 ± 1.3	-23.4 ± 1.8
1M4H	-17.7 ± 1.2	-32.8 ± 1.0	31.0 ± 0.8	-5.6 ± 0.1	6.3 ± 0.5	-18.8 ± 1.1

b) Tương tác vdW quan trọng hơn tương tác tĩnh điện – vai trò của block thứ 2 Q128 được chia thành 03 block. Đối với hai vòng của block 1 và block 2, đóng góp của tương tác vdW vào năng lượng liên kết là như nhau cho cả hai sợi 2MXU và 2NAO (Bảng 5.2). Trong khi đó, block 3 đóng góp vào tương tác vdW là khác nhau, với 2MXU (-14.1 kcal/mol) thì lớn hơn đáng kể so với 2NAO (-7.9 kcal/mol). Riêng thụ thể 1M4H, sự tham gia đóng góp của tương tác vdW vào liên kết từ 3 block là hầu như bằng nhau (khoảng -11.0 kcal/mol).

c) Tương tác non-bond chiếm ưu thế so với liên kết hydrogen

Giá trị trung bình số HB (hydrogen bond) của 4 quỹ đạo cho mỗi thụ thể lần lượt là $N_{\text{HB}} = 0.5$ (2MXU), 1.4 (2NAO), và 1.6 (1M4H) (Bảng 5.3). Trong khi đó, giá trị trung bình số HB của Q128 vào β -secretase thì mạnh hơn một chút so với các sợi.

Bảng 5. 2 Sự đóng góp của 3 block vào tương tác với các mục tiêu. Những kết quả thu được từ mô phỏng MD.

Q128	Block 1		Block 2		Block 3	
	ΔE_{ele}	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔE_{vdw}
2MXU	-5.8 ± 1.5	-15.1 ± 0.9	0.8 ± 1.4	-15.2 ± 2.2	-2.6 ± 1.0	-14.1 ± 0.2
2NAO	-25.8 ± 1.8	-15.2 ± 2.5	25.4 ± 3.7	-15.5 ± 1.5	-9.7 ± 1.1	-7.9 ± 3.1
1M4H	-5.6 ± 0.5	-11.0 ± 0.4	4.0 ± 0.9	-10.2 ± 0.2	-15.7 ± 0.6	-12.1 ± 0.4

Bảng 5. 3. Số liên kết HB và số tương tác không liên kết của Q128 với 2MXU, 2NAO, và 1M4H (β -secretase). Những quả nhận được bằng mô phỏng MD.

Thụ thể	HB trung bình	NBCs trung bình	Các amino axit hình thành HB với Q12
2MXU	0.5	21.9	His14(B), Glu11(D), His14(A), Ile32(E), Gly33(D), Glu11(A), Leu34(E)
2NAO	1.4	14.1	Val12(E), His13(E), His14(E), Lys16(D), His6(F), Tyr10(D), Ser8(E), Gly9(E), Gln15(D), Glu11(D), Gly38(B)
1M4H	1.6	20.6	Tyr198(A), Asp228(A), Thr72(A), Gln73(A), Thr329(A), Arg235(A), Lys224(A), Thr231(A), Ser328(A), Ser327(A), Arg128(A)

Số lượng NBC trung bình cho 4 quỹ đạo, lần lượt là: 21.9, 14.1 và 20.6 cho 2MXU, 2NAO và 1M4H. Từ đây có thể nhận xét như sau: số lượng HB thấp hơn đáng kể so với số lượng NBC trong suốt thời gian mô phỏng, điều này cho thấy NBC có vai trò quan trọng đối với liên kết của Q128 với các thụ thể. Kết quả phù hợp cho cả phương pháp docking và MD.

3.2.3.3 Kết quả thực nghiệm

a) Tác dụng chống lại sự hình thành sợi amyloid của Q128

Khả năng ức chế và ảnh hưởng đến sự phân ly của hợp chất Q128 lên sợi amyloid, giá trị IC_{50} và DC_{50} được xác định, và giá trị lần lượt bằng $42.6 \mu M$ và $22.7 \mu M$, tương ứng.

b) Tác dụng ức chế β -secretase của Q128

Hoạt tính ức chế của Q128 vào BACE1 được biểu thị bằng giá trị EC_{50} (the inhibitor concentration with 50% decrease in enzyme activity) là $15 \mu M$.

3.2.4 **Kết luận: CID 9998128 là hợp chất tiềm năng đa thụ thể cho bệnh Alzheimer**

Sử dụng phương pháp *in vitro* và *in silico*, kết quả nghiên cứu cho thấy rằng hợp chất Q128 có khả năng ức chế nhiều mục tiêu gây AD và tương tác vdW đóng vai trò quan trọng đối với tương tác của Q128 với các mục tiêu. Block 2 chứa nhóm indazole có thể là nguyên nhân gây sự không ổn định của 3 hệ (2MXU+Q128, 2NAO+Q128, và 1M4H+Q128) do tương tác đẩy.

Bằng thực nghiệm *in vitro* đã xác định được nồng độ hợp chất Q128 có thể ức chế sự hình thành sợi A β ₄₂. Các giá trị IC₅₀ và DC₅₀ thu được từ thực nghiệm nằm trong khoảng μ M, điều này cho thấy Q128 có khả năng tác động đáng kể vào anti-amyloid. Kết quả thực nghiệm cho thấy hợp chất Q128 làm giảm đáng kể hoạt tính của BACE-1, và Q128 liên kết mạnh với enzyme β -secretase.

3.3 **Hợp chất Hoechst 34580 và 33342 ức chế hình thành amyloid beta: Nghiên cứu *in silico* và *in vitro***

3.3.1 **Giới thiệu**

Nguyên nhân, cơ chế gây AD, các đặc điểm của A β đã được trình bày trong chương tổng quan.

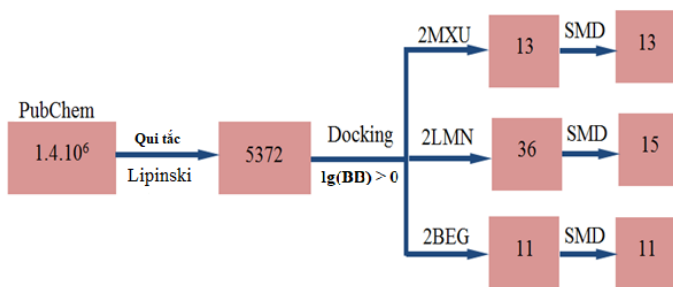
Các bước sàng lọc các hợp chất tiềm năng từ ngân hàng hợp chất PubChem để định hướng ức chế sợi A β . Trong các hợp chất tiềm năng nhất, Hoechst 34580 và Hoechst 33342 đã được nghiên cứu bằng thực nghiệm *in vitro* và có nồng độ ức chế (IC₅₀) tương ứng là 0.86 μ M và 0.68 μ M. Kết quả thực nghiệm hoàn toàn phù hợp với năng lượng liên kết tự do được tính bằng phương pháp MM-PBSA. Phân tích QSAR cho thấy cả Hoechst 34580 và Hoechst 34580 có khả năng vượt màng não rất tốt, và như vậy có tiềm năng điều trị AD.

3.3.2 **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

3.3.2.1 **Dữ liệu các phối tử và các thụ thể**

Ngân hàng PubChem có khoảng 1.4 triệu hợp chất. Sợi A β ₉₋₄₀ có PDB ID: 2LMN, gồm có 2 lớp, mỗi lớp có 6 chuỗi, và cấu trúc đối xứng của ba sợi A β ₄₀ với ID: 2M4J chứa 9 chuỗi. Đối với cấu trúc A β ₁₇₋₄₂ (PDB ID: 2BEG) có 5 chuỗi giống nhau, A β ₁₁₋₄₂ với PDB ID 2MXU có 12 chuỗi (Hình 4.1).

Áp dụng qui tắc Lipinski cho ngân hàng hợp chất PubChem, số lượng hợp chất đã được giảm đi đáng kể, khoảng 1.4 triệu hợp chất chỉ còn 5372 hợp chất có tính chất giống thuốc (Hình 6.1).



Hình 6.1. Các bước sàng lọc các hợp chất tiềm năng nhất

3.3.2.2 Phương pháp mô phỏng *in silico*

Phương pháp Docking: Autodock Vina version 1.1 được sử dụng với “exhaustiveness” là 400. Kích thước hộp của các mục tiêu A β : 4.7x5.3x7.4 nm (2LMN), 2.9x4.6x25.0 nm (2BEG), 5.3x4.2x6.5 nm (2MXU) và 9.2x9.2x3.5 nm (2M4J). Chúng tôi chỉ chọn những phối tử có năng lượng liên kết ΔE_{bind} thấp hơn -10.0, -8.0 và -9.0 kcal/mol cho lần lượt các mục tiêu 2LMN, 2BEG, và 2MXU, tương ứng.

Mô phỏng động lực học phân tử (MD): Mô phỏng động lực học phân tử được thực hiện với trường lực AMBER-f99SB-ILDN và mô hình nước TIP3P. Điện tích trung hòa của hệ, ion Na⁺ 12 (2LMN), 5 (2BEG), 8 (2MXU) và 27 (2M4J).

Phương pháp động lực học phân tử định hướng: Chi tiết phương pháp SMD trình bày trong chương 3. Sử dụng phần mềm CAVER 3.0, để xác định hướng kéo. Lực phá vỡ liên kết, F_{max} , càng lớn khả năng liên kết càng mạnh.

Phương pháp MM-PBSA: Phương pháp MM-PBSA được dùng để xác định năng lượng liên kết tự do, G_{bind} , của Hoechst 33342 và Hoechst 34580 vào các thụ thể 12A β_{9-40} (2LMN), 9A β_{1-40} (2M4J), 5A β_{17-42} (2BEG), và 8A β_{11-42} (2MXU).

Hàng rào máu não: Hàng rào máu não và các đại lượng dùng để phân tích số liệu được trình bày trong chương 3.

3.3.2.3 Thực nghiệm ThT

Thực nghiệm Thioflavin T (ThT) được trình bày trong phần 3.

3.3.3 Kết quả và thảo luận

3.3.3.1 Kết quả mô phỏng

a) Kết quả Docking

Năng lượng liên kết thu được với cấu hình tốt nhất của 5327 phối tử, giá trị

năng lượng liên kết từ -0.6 đến -11.4 kcal/mol (2LMN), -1.2 đến -8.8 kcal/mol (2BEG), -1.4 đến -11.9 kcal/mol (2MXU). Có 96 hợp chất có năng lượng thấp hơn -10.0 kcal/mol đối với mục tiêu 2LMN, 55 hợp chất có $\Delta E_{bind} < -8.0$ kcal/mol đối với mục tiêu 2BEG và 57 hợp chất có $\Delta E_{bind} < -9.0$ kcal/mol đối với mục tiêu 2MXU.

Trong mô phỏng docking, Hoechst 33342 có một liên kết hydrogen với mục tiêu 2LMN, nhưng không có HB nào với 2BEG, 2MXU và 2M4J, trong khi đó Hoechst 34580 không có bất kì HB nào với cả bốn mục tiêu.

b) Kết quả phân tích hàng rào máu não

Hoechst 34580 và Hoechst 33342 được đánh giá là vượt màng não dễ dàng với giá trị $\log(\text{BB}) = 0.73$ và 0.67 , tương ứng.

c) Kết quả SMD

Đối với 2MXU, Hoechst 34580 là tốt nhất đối với SMD nhưng đứng thứ 4 đối với docking. Hoechst 34580 và Hoechst 33342 có năng lượng liên kết gần bằng nhau và lực kéo cực đại F_{max} cũng gần bằng nhau. Đối với 2LMN, Hoechst 34580 và Hoechst 33342, được xếp hạng vị trí thứ 10 và 7.

d) Kết quả MM-PBSA

Phương pháp MM-PBSA, xác định năng lượng liên kết tự do, ΔG_{bind} , của Hoechst 34580 và Hoechst 33342. Kết quả tính toán đối với các mục tiêu và các phối tử cho thấy tương tác vdW chiếm ưu thế hơn so với tương tác tĩnh điện, cả hai ΔG_{elec} và ΔG_{vdW} đều có giá trị âm như trị tuyệt đối ΔG_{vdW} thì lớn ΔG_{elec} (Bảng 6.1).

Hoechst 34580 và Hoechst 33342 có năm (05) block. Bốn block đầu tiên thì giống nhau, block thứ 5 của Hoechst 33342 có các nguyên tử từ 55-62, Hoechst 34580 có các nguyên tử từ 55-63. Sự đóng góp của tương tác vdW, tĩnh điện của 5 block phụ thuộc vào mục tiêu (Bảng 6.2-6.5).

Bảng 6. 1. Năng lượng liên kết tự do (kcal/mol).

Thụ thể	Phối tử	ΔG_{elec}	ΔG_{vdw}	ΔG_{PB}	ΔG_{sur}	T ΔS	ΔG_{bind}
2LMN	Hoechst 34580	-14.9	-61.9	31.5	-7.4	-25.8	-26.9 ± 1.8
	Hoechst 33342	-8.2	-58.6	32.4	-5.6	-23.3	-16.7 ± 2.4
2M4J	Hoechst 34580	-10.6	-41.1	23.2	-4.5	-23.0	-10.0 ± 6.2
	Hoechst 33342	-8.0	-36.3	14.1	-5.7	-21.8	-14.0 ± 2.2
2BEG	Hoechst 34580	-3.8	-49.7	15.5	-7.1	-21.6	-23.6 ± 4.4
	Hoechst 33342	-10.9	-51.3	22.6	-5.4	-22.9	-22.0 ± 5.7
2MXU	Hoechst 34580	-4.6	-65.3	29.0	-5.8	-23.2	-23.5 ± 1.1
	Hoechst 33342	-4.5	-52.2	21.4	-8.3	-23.1	-20.5 ± 4.3

Bảng 6. 2. Sự đóng góp của từng block vào năng lượng tương tác của Hoechst 33342 (và Hoechst 34580) với 2LMN.

Năng lượng	Block 1	Block 2	Block 3	Block 4	Block 5
E_{vdw}	-14.2(-13.8)	-10.7(-15.3)	-14.0(-14.8)	-11.6(-11.1)	-7.8(-7.5)
E_{elec}	-2.9(-4.1)	-2.1(-7.1)	-4.8(0.9)	-1.0(20.0)	2.7(-24.4)
$E_{vdw} + E_{elec}$	-17.1(-17.9)	-12.8(-22.5)	-18.8(-13.9)	-12.7(8.8)	-5.1(-31.9)

Bảng 6. 3. Sự đóng góp của từng block vào năng lượng tương tác của Hoechst 33342 (và Hoechst 34580) với 2M4J.

Năng lượng	Block 1	Block 2	Block 3	Block 4	Block 5
E_{vdw}	-10.1(-9.0)	-9.3(-11.0)	-9.2(-11.2)	-5.7(-6.0)	-2.3(-3.7)
E_{elec}	-2.7 (-5.6)	-5.7(-13.1)	-7.2(10.0)	1.0(36.9)	7.0(-38.5)
$E_{vdw} + E_{elec}$	-12.9(-14.7)	-15.0(-24.1)	-16.5(-1.1)	-4.7(30.8)	5.3(-42.3)

Bảng 6. 4. Sự đóng góp của từng block vào năng lượng tương tác của Hoechst 33342 (và Hoechst 34580) với 2BEG.

Năng lượng	Block 1	Block 2	Block 3	Block 4	Block 5
E_{vdw}	-15.1(-12.2)	-14.7(-12.8)	-12.2(-14.6)	-6.1(-7.8)	-2.9(-3.6)
E_{elec}	-0.9(-2.9)	-8.4(-1.6)	-3.7(1.8)	0.03(9.0)	2.2(-10.4)
$E_{vdw} + E_{elec}$	-16.0(-15.2)	-23.2(-14.5)	-15.9(-12.8)	-6.1(1.1)	-0.7(-14.1)

Với phối tử Hoechst 34580, các nguyên tử 26, 29, 30, 37, 42 và 43 có tương tác tĩnh điện đóng vai trò quan trọng với thụ thể 2LMN, $\Delta E_{elec} < -30$ kcal/mol, phối tử Hoechst 33342, các nguyên tử 24, 26, 29, 30, 38, 42, 43 và 56 là quan trọng.

Bảng 6. 5. Sự đóng góp của từng block vào năng lượng tương tác của Hoechst 33342 (và Hoechst 34580) với 2MXU.

Năng lượng	Block 1	Block 2	Block 3	Block 4	Block 5
E_{vdw}	-11.6(-14.9)	-13.0(-16.2)	-13.5(-17.2)	-10.2(-10.4)	-4.3(-6.4)
E_{elec}	-0.7(-1.5)	-0.9(-0.8)	-2.4(-0.9)	-0.7(4.1)	0.3(-5.4)
$E_{vdw} + E_{elec}$	-12.3(-16.5)	-13.9(-17.1)	-15.9(-18.2)	-10.9(-6.2)	-3.9(-11.8)

Đối với 2BEG, phối tử Hoechst 33342 với các nguyên tử 26, 29, 30, 37, 42 và 43 đóng góp chính, trong khi đó, các nguyên tử 24, 26, 29, 30, 38, 42 và 43 của Hoechst 34580 là quan trọng. Block thứ 3 của Hoechst 33342 có năng lượng tương tác tĩnh điện đóng vai trò quan trọng với các mục tiêu 2LMN, 2M4J và 2MXU, trong khi đó block thứ 2 của 2BEG là quan trọng nhất (Bảng 6.2-6.5). Block thứ 2 của Hoechst 34580 liên kết tốt với 2LMN và 2M4J, nhưng block thứ 1 của 2BEG và 2MXU là chiếm ưu thế.

3.3.3.2 Kết quả thực nghiệm: Ước chế sự hình thành sợi $A\beta_{42}$ bởi Hoechst 34580 và Hoechst 33342

Thực nghiệm được thực hiện bởi nhóm thực nghiệm (Ning-Hsuan Tseng, Chin-Kun Hu, Yun-Ru Chen, Viện hàn lâm khoa học Sinica, Đài Loan) và xác định nồng độ ức chế tối đa một nửa (IC50) của Hoechst 34580 là $0.86 \pm 0.05 \mu\text{M}$ và $0.68 \pm 0.05 \mu\text{M}$ cho Hoechst 33342.

3.3.4 Kết luận: Hợp chất Hoechst 34580 và 33342 ức chế hình thành amyloid beta: nghiên cứu *in silico* và *in vitro*

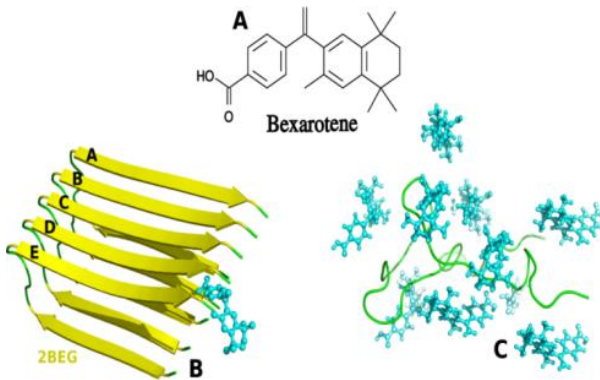
Quá trình sàng lọc các hợp chất tiềm năng được thực hiện qua nhiều bước. Sàng lọc được Hoechst 34580 và Hoechst 33342 có tiềm năng chữa AD vì chúng có khả năng ức chế tạo sợi $A\beta$. Kết quả mô phỏng phù hợp với kết quả thực nghiệm *in vitro* và cho thấy Hoechst 34580 và Hoechst 33342 liên kết cạnh các AA kỵ nước (hydrophobic) của chuỗi $A\beta$. Kết quả tính năng lượng liên kết tự do cho thấy tương tác vdW chiếm ưu thế hơn tương tác tĩnh điện. Phân tích QSAR chỉ ra rằng Hoechst 34580 và Hoechst 33342 có khả năng vượt màng não rất tốt, với giá trị $\log(\text{BB})$ lớn hơn 0.5. Đặc biệt Hoechst 34580 và Hoechst 33342 được biết là không có độc với tế bào nên chúng tôi đề xuất tiến hành nghiên cứu thực nghiệm *in vivo* đối với chúng.

3.4 Bexarotene không xóa được mảng amyloid beta: Cơ chế phân tử

3.4.1 Giới thiệu

Cramer và cùng các cộng sự (Science, 2012, 335, 1503–1506) đã cho rằng bexarotene có hiệu quả đáng ngạc nhiên trong việc làm giảm khoảng 50% các mảng A β chỉ trong vòng 72h trên các mô hình chuột bị AD. Bexarotene liên kết với các thụ thể nhân làm tăng khả năng liên kết ApoE với lipoprotein, các hạt lipoprotein liên kết này có thể tương tác với A β dung môi, kích thích quá trình xóa A β trong não.

Sau khi nghiên cứu của Cramer *et al* (Science, 2012, 335, 1503-1506). được công bố, có nhiều nhóm trên thế giới nghiên cứu và đánh giá khả năng điều trị AD của bexarotene, bằng thực nghiệm *in vivo* và mô phỏng nhưng kết quả của các nhóm nhiều khi trái ngược nhau. Vậy, cơ chế bexarotene trực tiếp phá hủy các sợi A β vẫn chưa hiểu rõ, và bexarotene ảnh hưởng như thế nào lên quá trình phát triển sợi A β , đặc biệt là các pha (phase) của A β . Chúng tôi đã tiến hành mô phỏng động học toàn nguyên tử của bexarotene với một vài cấu trúc A β . Kết quả thấy rằng bexarotene liên kết yếu với các sợi A β , phù hợp với kết quả *in vitro*, và điều này cho thấy rằng bexarotene không thể xóa được các sợi A β .



Hình 7. 1 (A) Cấu trúc 2D của bexarotene, (B) cấu hình docking tốt nhất của 5A β ₁₇₋₄₂ (2BEG) với bexarotene, (C) monomer A β ₁₋₄₂ với 10 bexarotene.

3.4.2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

3.4.2.1 Cấu trúc của bexarotene và các thụ thể

Bexarotene được lấy từ cơ sở dữ liệu mở. Cấu trúc 3D trước tiên được thiết kế bằng GaussView5, và sau đó, bexarotene được tối ưu bằng gói GAUSSIAN09. Cấu trúc sợi A β ₁₇₋₄₂ được lấy từ PDB với PDB ID: 2BEG (Hình 7.1).

3.4.2.2 *Phương pháp mô phỏng in silico*

Phương pháp Docking: Autodock Vina 1.1 với tham số “*exhaustiveness*” được chọn là 800. Kích thước hộp của $5A\beta_{17-42}$ $36 \times 35 \times 55 \text{ \AA}^3$, kích thước hộp bao phủ toàn thụ thể.

Mô phỏng động lực học phân tử (MD), phương pháp MM-PBSA: Để mô phỏng động lực học phân tử của thụ thể và phối tử, gói Amber11 được sử dụng để tạo các tham số trường lực AMBER99SB kết hợp với mô hình nước TIP3P cho mô phỏng toàn phân tử. Chi tiết về phương pháp MM-PBSA được trình bày trong chương 3.

3.4.3 *Kết quả và thảo luận*

3.4.3.1 *Tác dụng chống ngưng tụ amyloid của bexarotene*

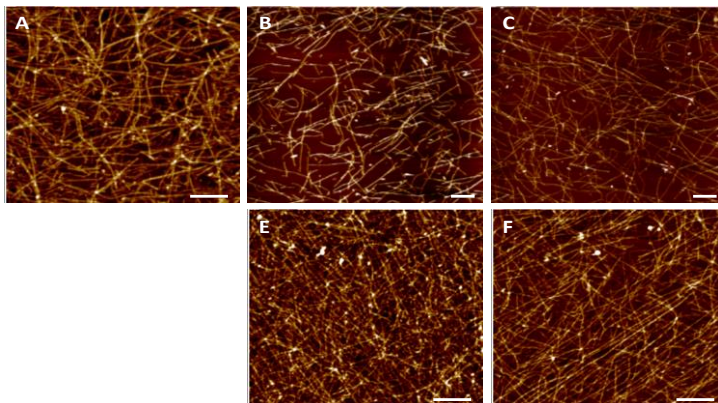
Khả năng ức chế ngưng tụ amyloid của bexarotene được quan sát bằng thực nghiệm huỳnh quang Thioflavin-T. Kết quả cho thấy rõ ràng rằng bexarotene không ảnh hưởng đáng kể lên sự ngưng tụ sợi $A\beta_{1-42}$ vì cường độ huỳnh quang không thay đổi so với các mẫu đối chứng $A\beta_{1-42}$ (~80-100%). Hơn nữa, bexarotene cũng không có khả năng phá hủy các sợi $A\beta_{1-42}$ vì cường độ huỳnh quang cũng không giảm khi tăng nồng độ bexarotene.

3.4.3.2 *Kính hiển vi lực nguyên tử*

Kết quả cho thấy rằng hình thái của những sợi $A\beta_{1-42}$, là sợi ngưng tụ không phân nhánh, có chiều dài vài μm . Với nồng độ bexarotene ở 10 μM và 100 μM , sự ngưng tụ sợi $A\beta_{1-42}$ giảm không đáng kể so với hình ảnh mẫu đối chứng. Điều này có thể khẳng định rằng bexarotene ảnh hưởng rất ít đến quá trình hình thành sợi $A\beta_{1-42}$.

3.4.3.3 *Kết quả Docking*

Bexarotene không hình thành HB nhưng có 09 tương tác không liên kết với thụ thể $5A\beta_{17-42}$. Kết quả docking cho thấy rằng Bexarotene liên kết yếu với sợi $A\beta$ ($\Delta E_{bind} = -7.0 \text{ kcal/mol}$).



Hình 7. 3 A) Hình ảnh đối chứng của $10 \mu\text{M } A\beta_{42}$, (B) Hình ảnh với sự hiện diện của bexarotene ở nồng độ 1 mM , (C) nồng độ 100 pM (C). Những sợi $A\beta_{42}$ với nồng độ bexarotene ở $100 \mu\text{M}$ (E) và $10 \mu\text{M}$ (F).

3.4.3.4 Bexarotene không phá hủy sợi $A\beta_{42}$ do ái lực liên kết thấp

a) Bexarotene liên kết yếu với sợi $A\beta_{42}$

Năng lượng liên kết tự do của bexarotene với $5A\beta_{17-42}$ được tính bằng mô phỏng MD với 4 quỹ đạo độc lập. Đối với mỗi quỹ đạo, chúng tôi thực hiện mô phỏng MD 200 ns và nhận thấy hệ đạt trạng thái cân bằng sau khoảng thời gian từ 40 đến 160ns.

Sử dụng phương pháp MM-PBSA và các cấu hình lấy từ trạng thái cân bằng. Năng lượng liên kết tự do cho mỗi quỹ đạo và trình bày kết quả trong bảng 7.1. Bảng này cho ta thấy tương tác vdW vượt trội hơn so với tương tác tĩnh điện, và óng góp chính trong tương tác của bexarotene với $5A\beta_{17-42}$.

Năng lượng liên kết tự do thấp ($\Delta G_{\text{bind}} \approx -0.7 \text{ kcal/mol}$) của bexarotene với sợi $A\beta$ cũng phù hợp với những kết quả *in vitro* của nhóm nghiên cứu.

Bảng 7. 1 Năng lượng liên kết tự do của bexarotene với $5A\beta_{17-42}$ (2BEG).

Quỹ đạo	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔG_{PB}	ΔG_{sur}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
1	-30.2	-10.2	24.3	-3.2	18.7	-0.6
2	-33.9	-1.9	16.3	-3.8	16.5	-6.9
3	-35.7	-6.4	25.8	-3.6	19.2	-0.7
4	-22.0	-10.5	25.1	-2.8	15.4	+5.3
Trung bình	-30.5 ± 6.1	-7.3 ± 4.0	22.9 ± 4.4	3.4 ± 0.4	17.5 ± 1.8	-0.7 ± 5.0

b) Phải chăng ái lực liên kết của bexarotene với sợi $A\beta_{42}$ nhạy cảm với các sợi thụ thể?

✚ Thụ thể 12A β_{11-42} (2MXU)

Mô phỏng docking cho ta năng lượng liên kết của bexarotene với 12A β_{11-42} (2MXU) là $E_{\text{bind}} = -7.8$ kcal/mol, kết quả này thấp hơn sợi 5A β_{17-42} (2BEG). Từ bảng 7.2 ta thấy tương tác vdW chiếm ưu thế so với tương tác tĩnh điện. Năng lượng liên kết tự do với 2MXU là $\Delta G_{\text{bind}} \approx -14 \pm 4$ kcal/mol, trái ngược với bexarotene liên kết với 2BEG. Như vậy năng lượng liên kết phụ thuộc vào cấu trúc của các thụ thể.

Bảng 7. 2 Năng lượng liên kết tự do (kcal/mol) của bexarotene với 2MXU.

Quỹ đạo	ΔE_{vdW}	ΔE_{ele}	ΔG_{PB}	ΔG_{Sur}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
1	-44.9 ± 2.7	-6.0 ± 2.8	23.8 ± 3.3	-4.4 ± 0.1	15.0 ± 5.5	-16.5 ± 6.3
2	-47.4 ± 2.7	-2.5 ± 2.5	22.8 ± 3.9	-4.5 ± 0.1	20.6 ± 2.2	-11.0 ± 3.7
3	-33.8 ± 2.3	-1.3 ± 1.8	15.5 ± 2.7	-3.6 ± 0.1	16.9 ± 2.3	-6.3 ± 3.4
4	-51.2 ± 3.2	-4.6 ± 4.8	28.2 ± 4.8	-4.7 ± 0.1	16.1 ± 2.2	-16.2 ± 4.3
5	-37.7 ± 3.1	-4.5 ± 5.3	18.5 ± 4.2	-4.4 ± 0.1	14.3 ± 3.7	-13.8 ± 5.1
6	-48.4 ± 2.4	-4.1 ± 2.2	25.6 ± 3.5	-4.3 ± 0.1	14.6 ± 4.2	-16.6 ± 5.2
7	-43.1 ± 3.7	0.3 ± 1.7	15.6 ± 2.3	-4.2 ± 0.1	14.4 ± 5.1	-16.9 ± 5.9
Trung bình	-43.8 ± 6.1	-3.2 ± 2.2	21.4 ± 4.9	-4.3 ± 0.3	16.0 ± 2.2	-13.9 ± 3.9

✚ Thụ thể 10A β_{11-42} (5KK3)

Cấu trúc bị cắt 5KK3 giống như cấu trúc 2MXU. Cấu hình tốt nhất của docking có năng lượng liên kết $E_{\text{bind}} = -7.9$ kcal/mol gần bằng với 2MXU. Năng lượng liên kết tự do của bexarotene với 5KK3 thu được bằng phương pháp MM-PBSA được dẫn ra trong bảng 7.3.

Những kết quả thu được cho những sợi bị cắt A β không thuyết phục vì bexarotene liên kết yếu với 2 thụ thể (2BEG và 5KK3) nhưng nó lại liên kết mạnh với 2MXU và đây cũng là động lực cho chúng tôi nghiên cứu sợi đầy đủ 6A β_{1-42} .

Bảng 7. 3 Năng lượng liên kết tự do (kcal/mol) của bexarotene với 5KK3.

Quy đạo	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔG_{PB}	ΔG_{sur}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
1	-25.1 ± 2.8	-8.7 ± 7.1	20.6 ± 7.1	-2.9 ± 0.1	16.5 ± 1.1	0.3 ± 2.8
2	-29.5 ± 6.2	-3.3 ± 4.0	15.0 ± 4.8	-3.1 ± 0.4	16.3 ± 1.5	-4.5 ± 4.8
3	-19.7 ± 3.6	-7.1 ± 5.1	15.7 ± 5.2	-2.4 ± 0.3	16.1 ± 5.6	2.6 ± 6.2
4	-21.2 ± 3.6	-3.1 ± 6.4	10.6 ± 5.8	-2.5 ± 0.3	14.7 ± 2.6	-1.6 ± 3.7
Trung bình	-23.9 ± 4.4	-5.6 ± 2.8	15.5 ± 4.1	-2.7 ± 0.3	15.9 ± 0.9	0.8 ± 3.0

✚ Thụ thể 6A β_{1-42} (2NAO)

Năng lượng thấp nhất của docking là $E_{bind} = -7.8$ kcal/mol. Năng lượng liên kết này gần bằng nhau cho cả ba thụ thể 2NAO, 2MXU, và 5KK3.

Tương tác vdW yếu như trường hợp của 2MXU (Bảng 7.2 và 7.4) nên bexarotene liên kết với 6A β_{1-42} cũng yếu, với $\Delta G_{bind} \approx -0.2 \pm 6.2$ kcal/mol.

Bảng 7. 4 Năng lượng liên kết tự do (kcal/mol) của bexarotene với 6A β_{1-42}

Quy đạo	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔG_{PB}	ΔG_{Sur}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
1	-20.6 ± 7.1	-7.2 ± 8.3	18.8 ± 11.0	-2.4 ± 0.5	18.2 ± 10.7	6.7 ± 11.4
2	-34.3 ± 2.2	-8.7 ± 2.8	24.4 ± 3.4	-3.1 ± 0.1	18.1 ± 4.9	-3.6 ± 5.9
3	-20.6 ± 7.7	-4.6 ± 5.2	14.1 ± 6.5	-2.5 ± 0.7	16.8 ± 2.4	3.0 ± 5.9
4	-42.6 ± 3.7	-4.6 ± 5.3	26.8 ± 4.9	-4.2 ± 0.1	17.6 ± 4.1	-7.0 ± 5.6
Trung bình	-29.5 ± 10.8	-6.3 ± 2.0	21.0 ± 5.7	-3.1 ± 0.8	17.7 ± 0.6	-0.2 ± 6.2

Tóm lại, các kết quả trên cho thấy bexarotene có năng lượng liên kết yếu với các thụ thể sợi A β . Tuy nhiên có một trường hợp là thụ thể 2MXU, baxerotene lại liên kết mạnh, nhưng đáng chú rằng đối với thụ thể 2NAO là sợi đầy đủ lại có năng liên kết yếu, kết quả của thụ thể này phù hợp với thực nghiệm. Như vậy kết quả *in silico* phù hợp với kết quả thực nghiệm rằng bexarotene không phá hủy được sợi A β_{42} do năng lượng liên kết yếu.

c) Bexarotene không phá hủy sợi A β_{42}

Bexarotene liên kết yếu với sợi 5A β_{17-42} đã khẳng định rằng bexarotene không tham gia xóa A β trực tiếp từ não. Để khẳng định điều này, chúng tôi tiến hành

mô phỏng MD 200 ns cho các trường hợp sợi $5A\beta_{17-42}$ với bexarotene và sợi $5A\beta_{17-42}$ không có bexarotene. Kết quả thấy rằng với sự hiện diện của 6 bexarotene không ảnh hưởng nhiều đến trạng thái ổn định của sợi.

3.4.4 Kết luận: Bexarotene không xóa được mảng amyloid beta - Cơ chế phân tử

Bởi vì bexarotene là hợp chất tiềm năng cho việc điều trị AD nên chúng tôi đã nghiên cứu tỉ mỉ sự ảnh hưởng của bexarotene lên sự tự sắp xếp của $A\beta_{1-42}$ (self-assembly). Thử nghiệm *in vitro* của chúng tôi đã cho thấy rằng bexarotene không thể phá hủy sợi $A\beta$ nhưng bexarotene có thể ngăn cản quá trình tự sắp xếp $A\beta$. Lần đầu tiên, chúng tôi đã chứng minh ở mức độ phân tử cho hiện tượng trên bằng mô phỏng toàn nguyên tử trong môi trường nước. Cụ thể, bexarotene không có khả năng xóa những sợi $A\beta$ vì bexarotene liên kết yếu với $A\beta$. Nhìn chung, nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với một vài thí nghiệm *in vivo* rằng bexarotene không thể xóa những sợi $A\beta$.

3.5 Bàn luận chung về kết quả nghiên cứu

Kể từ thời điểm phát hiện ra bệnh Alzheimer (AD) đến nay, nguyên gây AD vẫn chưa được xác định một cách rõ ràng, chưa có phương pháp điều trị có thể ngăn chặn hoặc đảo ngược tiến trình của AD. Hiện nay chỉ có một số biện pháp cải thiện các triệu chứng của AD. Với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học máy tính đã xuất hiện rất nhiều nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm về AD, nhưng cho đến nay vẫn chưa tìm được thuốc điều trị AD. Có nhiều nguyên nhân cho sự thất bại trong việc tìm ra thuốc mới. Có thể là: *Thứ nhất*, có quá nhiều giả thuyết về nguyên nhân gây AD, do đó các nghiên cứu không xác định rõ mục tiêu thật sự gây bệnh; *Thứ hai*, các nghiên cứu vẫn chưa hiểu một cách sâu sắc, chi tiết về đặc điểm, thuộc tính của các thuốc điều trị AD; *Thứ ba*, các thuốc điều trị AD chỉ tập trung vào một mục tiêu gây bệnh hoặc một số mục tiêu gây bệnh nhưng số lượng mục tiêu chưa đủ lớn.

Mặc dù có nhiều giả thuyết gây ra AD nhưng có thể chia thành 3 nhóm chính như sau: sự mất cân bằng về tế bào, gen hay phân tử. Trong nhóm mất cân bằng phân tử, giả thuyết amyloid được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất, có nhiều thông tin và dữ liệu kết quả lý thuyết lẫn thực nghiệm. Vì các lí do trên, luận án tập trung nghiên cứu sàng lọc các hợp chất tiềm năng có khả năng điều trị AD theo giả thuyết amyloid dựa trên mô phỏng bằng máy tính nhằm tạo cơ sở để được học thực nghiệm có thể lựa chọn phương án tối ưu chế tạo và thử nghiệm

thuốc điều trị phù hợp.

Kết quả nghiên cứu đối với trường hợp ức chế một mục tiêu, thực hiện sàng lọc qua nhiều bước thu được hai hợp chất tiềm năng: Hoechst 34580, Hoechst 33342. Kết quả mô phỏng động lực học phân tử với tất cả nguyên tử cho thấy rằng Hoechst 34580, Hoechst 33342 liên kết mạnh với mục tiêu A β và tương quan rất tốt với nồng độ ức chế IC50 đo được bằng thực nghiệm. Trong khi đó, đối với trường hợp ức chế nhiều mục tiêu, kết quả sàng lọc bằng docking, SMD thu được CID 16040294 và CID 9998128 liên kết tốt với đa mục tiêu gây AD như sợi A β , PPAR γ , LXR α , β -secretase và γ -secretase. Kết hợp giữa thực nghiệm *in vitro* và mô phỏng động học toàn nguyên tử cho thấy rằng CID 9998128 có thể ức chế cùng lúc nhiều mục tiêu của AD. Từ các kết quả trên, có thể khẳng định rằng Hoechst 34580, Hoechst 33342, CID 16040294 và CID 9998128 là những hợp chất tiềm năng trong thiết kế thuốc điều trị AD.

Ngoài ra có nghiên cứu đã cho rằng Bexarotene có khả năng điều trị AD thông qua phá vỡ các đám rối A β . Tuy nhiên kết quả đó còn nhiều tranh cãi. Để có cơ sở so sánh kết quả nghiên cứu của các nhóm khác nhau và đánh giá khả năng thực sự của bexarotene trong điều trị AD, kết quả mô phỏng của luận án cho thấy rằng bexarotene liên kết yếu với các sợi A β , kết quả này phù hợp với kết quả *in vitro* về việc bexarotene không thể phá hủy sợi A β . Đóng góp của luận án trong vấn đề này là giải thích cơ chế tương tác của bexarotene với các sợi A β ở mức độ nguyên tử, và ảnh hưởng của bexarotene lên sự phát triển và ổn định của sợi A β . Kết quả nghiên cứu đã làm sáng tỏ vai trò của bexarotene trong điều trị AD là bexarotene không phá hủy được các sợi A β mà chỉ kéo dài pha tiềm phát.

Một trong những đóng góp quan trọng của luận án liên quan đến cải tiến phương pháp sàng lọc các hợp chất từ các ngân hàng dữ liệu lớn. Những phương pháp dùng để xác định năng lượng liên kết tự do của mục tiêu và phối tử như phương pháp LRA, LIE, TI, FEP, MM-PBSA chưa thực sự phù hợp cho việc sàng lọc vì cần nhiều tài nguyên máy tính, tốn nhiều thời gian. Để khắc phục khó khăn này nhóm nghiên cứu đề xuất một công cụ, đó là đưa phương pháp mô phỏng động lực học phân tử định hướng vào bước cuối cùng trong sơ đồ sàng lọc hợp chất tiềm năng. Phương pháp không chỉ sử dụng cho nghiên cứu này mà có thể áp dụng một cách tổng quát cho các lĩnh vực liên quan đến sàng lọc hợp chất tiềm năng từ ác ngân hàng dữ liệu lớn như cho bệnh HIV, SARS-CoV-2, sàng lọc hợp chất tự nhiên ức chế thụ thể LSD1 gây ung thư vv...

4. KẾT LUẬN

✚ Các kết quả và đóng góp khoa học chính của luận án

Kết hợp giữa phương pháp mô phỏng và thực nghiệm *in vitro*, luận án trình bày một số kết quả mới thu được như sau:

- Bằng phương pháp mô phỏng, nhóm nghiên cứu xem xét các mục tiêu gây ra AD. Sử dụng phương thức sàng lọc qua nhiều bước có tính cải tiến (trong đó tính toán W_{pull} bằng phương pháp SMD mất ít thời gian hơn ΔG_{bind}), nhóm nghiên cứu đã thu được hai hợp chất CID 16040294 và CID 9998128 có công không cân bằng lớn hơn công không cân bằng của các hợp chất đối chứng. Trong mọi trường hợp tương tác vdW vượt trội so với tương tác tĩnh điện giữa phối tử và thụ thể. Từ kết quả mô phỏng và thực nghiệm có thể khẳng định rằng CID 16040294 và CID 9998128 là những chất tiềm năng điều trị AD.

- Về mặt phương pháp luận phương pháp SMD được tích hợp vào sơ đồ sàng lọc thuốc tiềm năng đa bước từ các ngân hàng dữ liệu lớn. Sơ đồ mới này cho phép nâng cao tính chính xác và hiệu quả tính toán vì phương pháp SMD nhanh nhưng vẫn đảm bảo độ chính xác cao.

- Áp dụng phương pháp SMD vào sơ đồ sàng lọc thuốc tiềm năng đa bước từ các ngân hàng dữ liệu chọn lọc và tính toán năng lượng tương tác, nhóm nghiên cứu tìm thấy hợp chất Q128 tương tác mạnh với sợi A β 42 và BACE1, trong đó nhóm indazole của Q128 tương tác đầy. Kết quả thực nghiệm *in vitro* cho thấy rằng Q128 ức chế tốt sợi A β 42 và BACE1. Từ kết quả *in vitro* và *in silico*, nhóm nghiên cứu cho rằng Q128 có khả năng ức chế nhiều thụ thể gây AD.

- Nghiên cứu mô phỏng của chúng tôi cũng dự đoán được khả năng ức chế A β của Hoechst 34580 và Hoechst 33342, phù hợp với kết quả nghiên cứu thực nghiệm. Các hợp chất Hoechst 34580 và Hoechst 33342 nằm ở vị trí gần các AA hydrophobic của A β peptide. Tương tác vdW chiếm ưu thế vượt trội so với tương tác tĩnh điện trong khả năng tương tác của Hoechst 34580 và Hoechst 33342 với các thụ thể. Phân tích QSAR đã cho thấy Hoechst 34580 và Hoechst 33342 có thể vượt màng não tốt, do có $\log(BB)$ lớn hơn 0.5.

- Bằng phương pháp mô phỏng toàn nguyên tử thực hiện lần đầu tiên đối với bexarotene trong mô hình nước, kết quả nhận thấy bexarotene không thể phá hủy được các sợi A β vì bexarotene liên kết yếu với các mục tiêu; tuy nhiên, bexarotene kéo dài thời gian của các pha, điều này liên qua đến sự suy giảm của

β -sheet ở trạng thái monomer. Sự kéo dài thời gian phát triển các sợi chỉ quán sát được ở nồng độ bexarotene cao khi nó ảnh hưởng đến quá trình tự sắp xếp A β . Thực nghiệm *in vitro* đã khẳng định rằng bexarotene không thể đảo ngược quá trình tạo sợi nhưng nó có thể kéo dài quá trình tự sắp xếp A β .

✚ Hướng phát triển của luận án

Cho đến nay, một số thuốc phổ biến điều trị giảm nhẹ bệnh AD đã được bào chế dựa trên giả thuyết cholinergic. Nghĩa là người ta sử dụng chất ức chế Cholinesterase giúp ngăn ngừa sự giảm hàm lượng acetylcholine, một loại chất dẫn truyền thần kinh khác liên quan đến quá trình ghi nhớ và học hỏi. Các phương pháp điều trị dựa trên cơ sở giả thuyết amyloid, giả thuyết tau vẫn đang được nghiên cứu và hy vọng sẽ được áp dụng trong tương lai gần, đặc biệt kết hợp nhiều phương pháp trị liệu tiên tiến như tế bào gốc, kỹ thuật gen, siêu âm xung ngắn, trị liệu bức xạ... nhằm đưa thuốc vượt qua hàng rào máu não hoặc tạo đột biến nhằm ức chế các mảng amyloid. Bằng công cụ tính toán mô phỏng, nhóm nghiên cứu đã tiếp cận đến lĩnh vực điều trị AD bằng nhiều phương thức: tương tác động học của thuốc, ức chế bằng gây đột biến lên các chuỗi amyloid, tác động vật lý tăng hiệu quả dẫn thuốc vượt hàng rào máu não, vv... Một cách tổng quát, nghiên cứu nhằm xác định giải pháp tối ưu hiệu quả điều trị, và ứng dụng mô phỏng cho nhiều lĩnh vực y sinh phân tử khác.

Do vậy, định hướng phát triển của luận án có thể là, *thứ nhất*, với những quy trình mô phỏng sàng lọc thuốc tiềm năng đa bước từ các ngân hàng hợp chất lớn và các tính toán động lực học phân tử như đã thực hiện trong luận án, có thể áp dụng cho nhiều bệnh lý khác tương tự (Parkinson, viêm não virus, coronavirus). *Thứ hai*, đánh giá, kiểm chứng khả năng tương tác của các hợp chất tiềm năng CID 16040294, Hoechst 34580, Hoechst 33342 và CID 9998128 với nhiều thụ thể hơn, bằng nhiều phương pháp tính toán như gần đúng phản ứng tuyến tính (LRA), năng lượng tương tác tuyến tính, tích phân nhiệt động lực học, nhiễu loạn năng lượng tự do (FEB) để nâng cao độ tin cậy áp dụng của các hợp chất này. *Thứ ba*, kết hợp tương tác thuốc và khả năng gây đột biến, nâng cao khả năng ức chế và xóa các amyloid, tăng cường hiệu quả điều trị bệnh AD.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN

Tạp chí quốc tế

1. **N. Q. Thai**, N.-H. Tseng, M. T. Vu, T. T. Nguyen, H. Q. Linh, C.-K. Hu, *et al.*, "Discovery of DNA dyes Hoechst 34580 and 33342 as good candidates for inhibiting amyloid beta formation: in silico and in vitro study," *Journal of computer-aided molecular design*, 30(8), pp. 639-650, 2016.
2. P. D. Q. Huy, **N. Q. Thai**, Z. Bednarikova, L. H. Phuc, H. Q. Linh, Z. Gazova, *et al.*, "Bexarotene does not clear amyloid beta plaques but delays fibril growth: Molecular mechanisms," *ACS Chemical Neuroscience*, 8(9), pp. 1960-1969, 2017.
3. **N. Q. Thai**, H. L. Nguyen, H. Q. Linh, and M. S. Li, "Protocol for fast screening of multi-target drug candidates: Application to Alzheimer's disease," *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 77, pp. 121-129, 2017.
4. H. D. Q. Pham, **N. Q. Thai**, Z. Bednarikova, H. Q. Linh, Z. Gazova, and M. S. Li, "Bexarotene cannot reduce amyloid beta plaques through inhibition of production of amyloid beta peptides: in silico and in vitro study," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 20, pp. 24329-24338, 2018.
5. **N. Q. Thai**, N. Q. Nguyen, C. Nguyen, T. Q. Nguyen, K. Ho, T. T. Nguyen, *et al.*, "Screening potential inhibitors for cancer target LSD1 from natural products by steered molecular dynamics," *Molecular Simulation*, pp. 1-8, 2017.
6. **N. Q. Thai**, Z. Bednarikova, M. Gancar, H. Q. Linh, C.-K. Hu, M. S. Li, *et al.*, "Compound CID 9998128 Is a Potential Multitarget Drug for Alzheimer's Disease," *ACS chemical neuroscience*, vol. 9, pp. 2588-2598, 2018.
7. HL Nguyen, PH An, **NQ Thai**, HQ Linh, MS Li, "Erythromycin, Cethromycin and Solithromycin display similar binding affinities to the E. coli's ribosome: A molecular simulation study," *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 91, 80-90, 2019.