Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường
website: sj.ctu.edu.vn

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.145

NGHIÊN CỨU TƯƠNG TÁC CỦA VORINOSTAT VỚI ENZYME HDAC8 (1T67) BẰNG AUTODOCK

Nguyễn Cường Quốc, Nguyễn Trọng Tuân, Bùi Thị Bửu Huê 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: 26/06/2020
Ngày nhận bài sửa: 10/09/2020
Ngày duyệt đăng: 28/12/2020

Title:
Interactive study of vorinostat with enzyme HDAC8 (1T67) by Autodock

Từ khóa:
Autodock, molecular docking, HDAC, ung thư, vorinostat

Keywords:
Autodock, docking, enzyme HDAC, tumor cells, vorinostat

ABSTRACT

Vorinostat is a histone deacetylase inhibitor which was approved by the US FDA in 2006 for the treatment of cutaneous manifestations in patients with cutaneous T-cell lymphoma. Among 18 HDAC enzymes, vorinostat is a potent inhibitor of the activity of HDAC1, HDAC2, HDAC3 and HDAC6. However, there have not been many published papers on the inhibitory capacity against HDAC8 (1T67) of vorinostat. In this study, the interactions of vorinostat with the enzyme HDAC8 (1T67) were performed and described by docking vorinostat into the active zone of the HDAC8 enzyme using Autodock. HDAC8 is a class I histone deacetylase implicated as a therapeutic target in various diseases, including cancer, parasitic infections and Cornelia de Lange syndrome. In invasive breast tumor cells, HDAC8 is among the three HDAC family members that are upregulated and driving invasiveness. The docking analysis shows vorinostat's interactions with Zn^{+2} ion, Gly151, Gly304, Asp178, Tyr306, Phe207, Met274 and other less interacting residues. Therefore, the results could act as a momentum for further studies on the design of new isozyme-selective HDAC8 inhibitors.

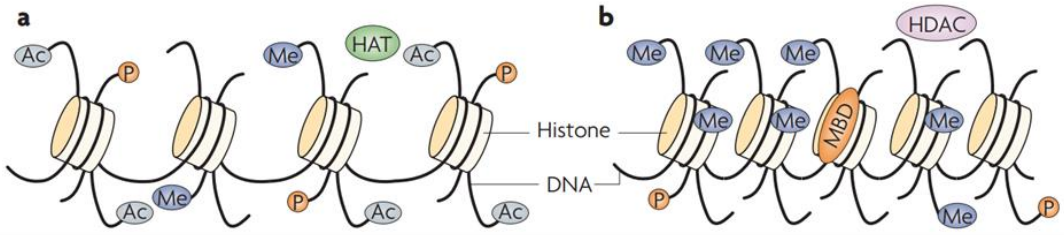
TÓM TẮT

Vorinostat là thuốc có khả năng ức chế enzyme HDAC, được FDA Hoa Kỳ phê duyệt năm 2006 điều trị u lympho tế bào T ở da. Trong số 18 loại enzyme HDAC, vorinostat ức chế mạnh hoạt động của enzyme HDAC1, HDAC2, HDAC3 và HDAC6. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều tài liệu công bố về khả năng ức chế của vorinostat về HDAC8 (1T67). Trong nghiên cứu này, các tương tác của vorinostat với enzyme HDAC8 (1T67) được thực hiện và mô tả bằng việc docking vorinostat vào vùng hoạt động của enzyme HDAC8 thông qua Autodock. HDAC8 là HDAC loại I được coi là mục tiêu điều trị trong các bệnh khác nhau bao gồm: ung thư, nhiễm ký sinh trùng và hội chứng Cornelia de Lange. Trong các tế bào khối u vú xâm lấn, HDAC8 là một trong ba thành viên nhóm các HDAC được điều hòa và điều trị xâm lấn. Phân tích kết quả docking cho thấy vorinostat tương tác mạnh với ion Zn^{+2}, Gly151, Gly304, Asp178, Tyr306, Phe207, Met274 và các amino acid khác. Do đó, kết quả là tiền đề giúp thiết kế các chất ức chế chọn lọc HDAC8 mới.

Trích dẫn: Nguyễn Cường Quốc, Nguyễn Trọng Tuân, Bùi Thị Bửu Huê và Trần Quang Đệ, 2020. Nghiên cứu tương tác của vorinostat với enzyme HDAC8 (1T67) bằng Autodock. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(6A): 77-88.

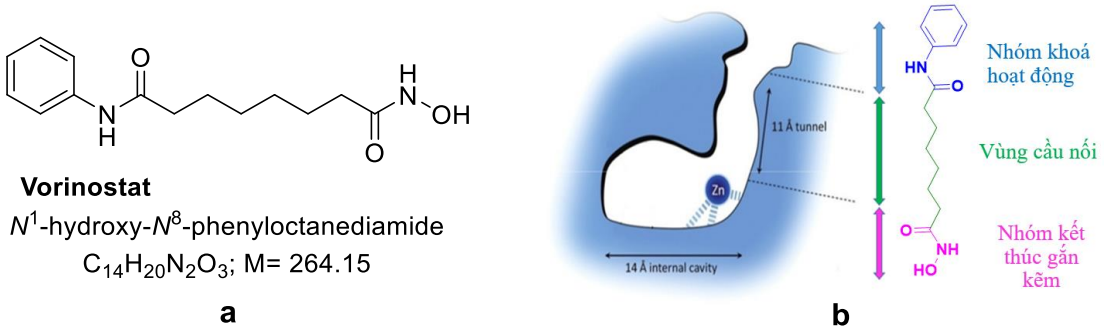
1 GIỚI THIỆU

Hiện nay, người ta nhận ra rằng HDAC (histone deacetylase) là mục tiêu đầy hứa hẹn cho các can thiệp trị liệu, nhằm sửa đổi các trạng thái biểu sinh bất thường liên quan đến ung thư, tiểu đường và các bệnh khác ở người (Grant *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016). Sự cân bằng của quá trình acetyl hóa histone được duy trì bởi hai loại enzyme, HAT (histone acetyltransferase) và HDAC (Li and Seto, 2016). Enzyme HAT xúc tác cho việc chuyển một nhóm acetyl từ acetyl-CoA sang nhóm ε-NH_2 của dư lượng lysine trong protein (Bolden *et al.*, 2006), trong khi đó HDAC có tác dụng đối lập với HAT (Hình 1). HDAC xúc tác cho quá trình deacetyl hoá nhóm *ε-N* acetyllysine amino acid ở phần đuôi của histone, làm đóng xoắn chromatin, do đó ức chế quá trình phiên mã (Johnstone, 2002). Sự cân bằng giữa hoạt động của HAT và HDAC là điều kiện để các tế bào hoạt động bình thường (Li and Seto, 2016). Các nghiên cứu đã cho thấy rằng trong các tế bào tiền ung thư, sự deacetyl hóa chiếm ưu thế dẫn đến những thay đổi trong sự tăng sinh, sự biệt hóa, sự chết của tế bào, hay nói cách khác là biến chúng thành các tế bào ác tính (Parbin *et al.*, 2014; Anantharaju *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2017).



Hình 1: Cấu trúc chromatin và hoạt động phiên mã: (a) Enzyme HATs xúc tác cho quá trình acetyl hoá cho phép kích hoạt phiên mã; (b) Enzyme HDACs xúc tác quá trình deacetyl hoá dẫn đến ức chế phiên mã

Hiện nay đã xác định được 18 loại enzyme HDAC có mặt trên người, được chia thành bốn nhóm dựa trên chức năng và trình tự DNA bao gồm: nhóm I (HDAC1, HDAC2, HDAC3 và HDAC8), nhóm II (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 và HDAC10), nhóm IV (HDAC11), các nhóm này chủ yếu nằm ở nhân, tâm hoạt động phụ thuộc vào ion Zn^{2+}. Riêng nhóm III gồm các Sirtuins 1-7 là một họ các enzyme phụ thuộc vào NAD^+ (Ortore *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2015). Trong khi đó, hầu hết các nghiên cứu định hướng trị bệnh thường tập trung vào các enzyme HDAC1, HDAC2, HDAC3 và HDAC6 (Falkenberg and Johnstone, 2014), thì gần đây đã có sự quan tâm ngày càng tăng đối với enzyme HDAC8 như là một mục tiêu điều trị hướng đích mới (Mottamal *et al.*, 2015). Đây là HDAC loại I phụ thuộc kẽm chứa 377 amino acid, có khối lượng phân tử dự đoán 42 kDa (Buggy *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2000; Van den Wyngaert *et al.*, 2000). HDAC8 có vai trò nhiều mặt trong sinh lý bệnh của con người. Năm 2014, nghiên cứu của Kaiser và cộng sự đã cho thấy đột biến cấu trúc và hoạt động của HDAC8 dẫn tới các vấn đề về thần kinh và hội chứng Cornelia de Lange (một bệnh di truyền hiếm gặp gây dị tật bẩm sinh) (Kaiser *et al.*, 2014). HDAC8 tương quan với u nguyên bào thần kinh một bệnh ung thư phôi thai ác tính và u lympho tế bào T ở người (Oehme *et al.*, 2009). Trong nhiễm ký sinh trùng và virus, ức chế HDAC8 dẫn đến giảm sự lây lan và truyền nhiễm (Yamauchi *et al.*, 2011; Marek *et al.*, 2013). Ngoài ra, HDAC8 tham gia vào sự tăng sinh tế bào ung thư phổi, ung thư vú, ung thư ruột kết (đại tràng) và ung thư cổ tử cung, liên quan đến hình thành các khối u bằng cách điều chỉnh hoạt động của telomerase (Vannini *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2006). Từ đó, các chất ức chế HDAC8 đang được phát triển lâm sàng và được đánh giá trong một số chỉ định cho các loại ung thư khác nhau. Tuy nhiên, các chất ức chế chọn lọc HDAC8 với các đặc tính trong các mô hình tiền lâm sàng tiên tiến hiện nay vẫn còn khan hiếm (Chakrabarti *et al.*, 2015). Vorinostat (SAHA) (Hình 2) là chất ức chế HDAC thế hệ đầu tiên được cấp phép sử dụng lâm sàng, đã được chứng minh là ức chế hoạt động của HDAC nhóm I và II, đặc biệt là HDAC1, HDAC2, HDAC3 và HDAC6 ở nồng độ nano thấp (Grant *et al.*, 2007; Siegel *et al.*, 2009). Vorinostat là chất ức chế HDAC phổ rộng có cấu trúc dựa trên hydroxamic acid, có ảnh hưởng đến sự biểu hiện của 2-10% tất cả các gene được nghiên cứu, tương ứng với hàng trăm đến hàng nghìn gene trong bộ gene người (Oehme *et al.*, 2009). Vorinostat còn gây ra sự chết của các tế bào ung thư, ức chế sự tăng sinh, hình thành mạch, tăng cường sự miễn dịch đối với bệnh ung thư (Son *et al.*, 2014).



Hình 2: Vorinostat (SAHA): a) Cấu trúc 2D của vorinostat; b) Cấu trúc hoạt động ức chế chung HDAC của vorinostat

Hiện nay, trên kho dữ liệu protein có 31 cấu trúc HDAC8 của con người với các mã ID protein khác nhau, được kết tinh với các chất ức chế HDAC thông dụng khác nhau (Bảng 1) (Estiu *et al.*, 2010; Whitehead *et al.*, 2011; Chakrabarti *et al.*, 2015; Decroos *et al.*, 2015; Gantt *et al.*, 2016; Porter *et al.*, 2016; Tabackman *et al.*, 2016; Porter and Christianson, 2017; Marek *et al.*, 2018).

Bảng 1: Các loại HDAC8 ở người được kết tinh với các chất ức chế thông dụng trên kho dữ liệu Protein data bank

ID PDB	Chất ức chế	Phương pháp	Độ phân giải Å	Năm
1T64	TSA	X-Ray	1.900	2004
1T67	MS-344	X-Ray	2.310	2004
1T69	Vorinostat	X-Ray	2.910	2004
1VKG	CRA19158	X-Ray	2.200	2004
2W22	PTSB-hydroxamate	X-Ray	2.500	2004
3EW8	MS-344	X-Ray	1.800	2008
3EZP	MS-344	X-Ray	2.650	2008
3EZT	MS-344	X-Ray	2.850	2008
3FO6	MS-344	X-Ray	2.550	2008
3F07	APHA	X-Ray	3.300	2008
3FOR	TSA	X-Ray	2.540	2008
3MZ3	MS-344	X-Ray	3.200	2010
3MZ4	MS-344	X-Ray	1.850	2010
3MZ6	MS-344	X-Ray	2.000	2010
3MZ7	MS-344	X-Ray	1.900	2010
3RQD	Largazole thiol	X-Ray	2.140	2011
4QA0	Vorinostat	X-Ray	2.240	2014
4QA1	MS-344	X-Ray	1.920	2014
4QA2	Vorinostat	X-Ray	2.380	2014
4QA3	TSA	X-Ray	2.880	2014
4QA4	MS-344	X-Ray	1.980	2014
5D1B	TSA	X-Ray	2.900	2015
5DC5	M344	X-Ray	1.940	2016
5THS	MS-344	X-Ray	1.900	2016
5THV	MS-344	X-Ray	1.868	2016
5THT	MS-344	X-Ray	2.407	2016
5THU	MS-344	X-Ray	1.950	2016
5BWZ	Droxinostat	X-Ray	1.590	2016
5FCW	Hydroxamic acid	X-Ray	1.979	2016
5VI6	Trapoxin A	X-Ray	1.237	2017
6HSK	Quisinostat	X-Ray	2.096	2018

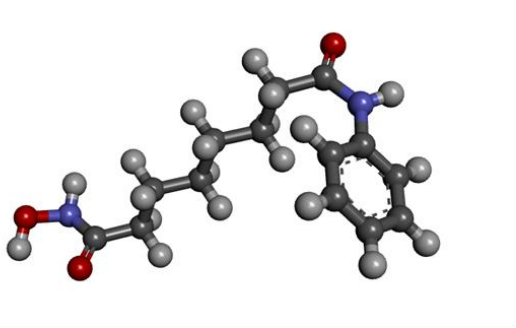
Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều tài liệu công bố về hoạt tính sinh học, khả năng tương tác ức chế của vorinostat với enzyme HDAC8 ở người mã pdb 1T67. Vì vậy trong nghiên cứu này, các tương tác của vorinostat với enzyme HDAC8 (1T67) đã được nghiên cứu và thực hiện thông qua phần mềm Autodock. Mục đích đánh giá các tương tác, vùng hoạt động, khả năng ức chế của vorinostat đối với HDAC8 (1T67). Từ đó, góp phần làm tiền đề cho các nghiên cứu khác phát triển các chất ức chế chọn lọc HDAC8 và sự hiểu biết tốt hơn về enzyme HDAC8 được xem là một trong các yếu tố quan trọng liên quan đến các căn bệnh ung thư hiện nay.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trong nghiên cứu này, các tương tác của vorinostat với enzyme HDAC8 (1T67) được thực hiện bằng cách docking phân tử ligand vorinostat vào phân tử enzyme HDAC8 (1T67). Tiếp theo kiểm tra các tương tác của vorinostat với enzyme HDAC8, tìm tâm liên kết của ligand với enzyme, hình dạng liên kết, năng lượng liên kết (kcal/mol), đánh giá và so sánh với các kết quả đã được công bố trên gồm: mô hình phân tử enzyme HDAC8 (1T69) gắn với chất ức chế vorinostat và mô hình phân tử enzyme HDAC8 (1T67) gắn với chất ức chế MS-344 (Somoza *et al.*, 2004). 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 sử 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).

2.1 Chuẩn bị ligand

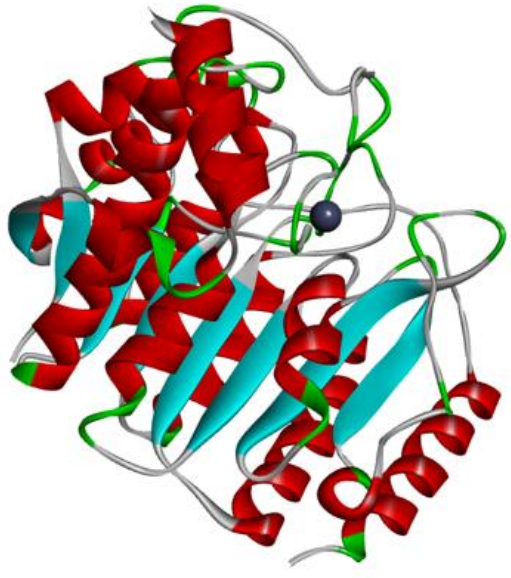
Cấu trúc hoá học ban đầu của vorinostat được vẽ, chuyển đổi tự động sang 3D bằng phần mềm Chem3D 16.0 tiếp theo tiến hành tính toán năng lượng thấp nhất với MM2. Sau đó tối ưu hoá cấu trúc phân tử, quá trình được thực hiện bằng phần mềm Gaussian 09W với phương pháp bán thực nghiệm (semi-empirical) PM6 (Alsawalha *et al.*, 2019). PM6 được xem là phương pháp tối ưu cấu trúc tốt để thực hiện quá trình docking phân tử (Araújo *et al.*, 2015) . Phần mềm Open Babel được sử dụng để tạo file ligand định dạng .pdb (Hình 3) (Hutchison *et al.*, 2011).



Hình 3: Cấu trúc 3D ligand volinostat

2.2 Chuẩn bị enzyme

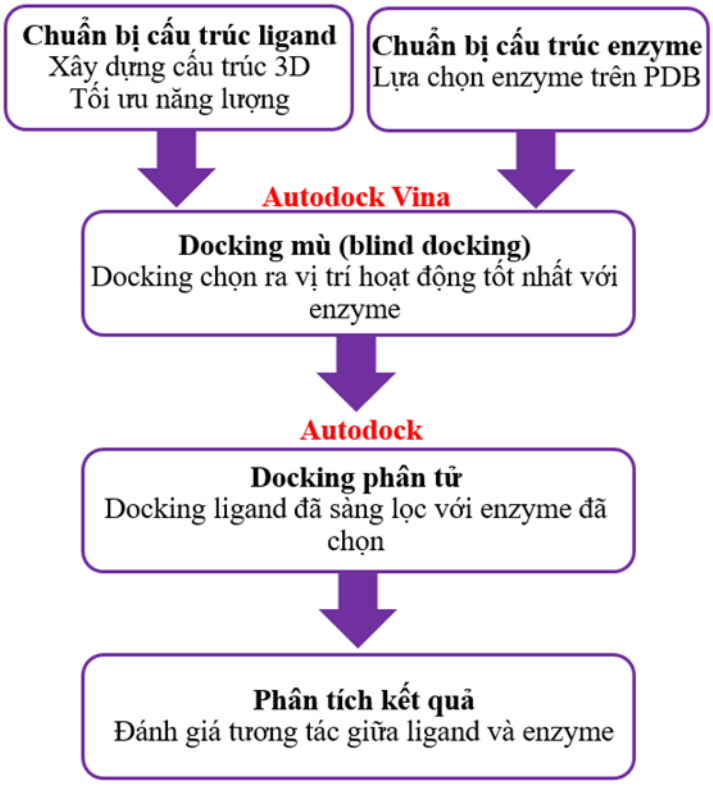
Cấu trúc tinh thể HDAC8 (1T67) độ phân giải cao tạo phức với ligand MS-344 ở người được tải xuống từ cơ sở dữ liệu protein data bank (https://www.rcsb.org/structure/1T67). Protein data bank (PDB) là ngân hàng quốc tế chứa hơn 81000 dữ liệu cấu trúc protein ba chiều, phần lớn chúng được xác định bằng phương pháp tinh thể tia X, còn lại được xác định bằng phổ cộng hưởng từ NMR. Sau đó được xử lý bằng phần mềm Discovery Studio 2019 Client để loại bỏ các phân tử nước, ligand tạo phức, giữ lại ion Zn^{2+}, thêm liên kết hydrogen phân cực và tính toán điện tích (Hình 4) (Accerlys, 2005).



Hình 4: Enzyme HDAC8 mã 1T67 và ion Zn^{2+} (hình cầu màu xám) sau khi xử lý bằng Discovery Studio

2.3 Docking phân tử

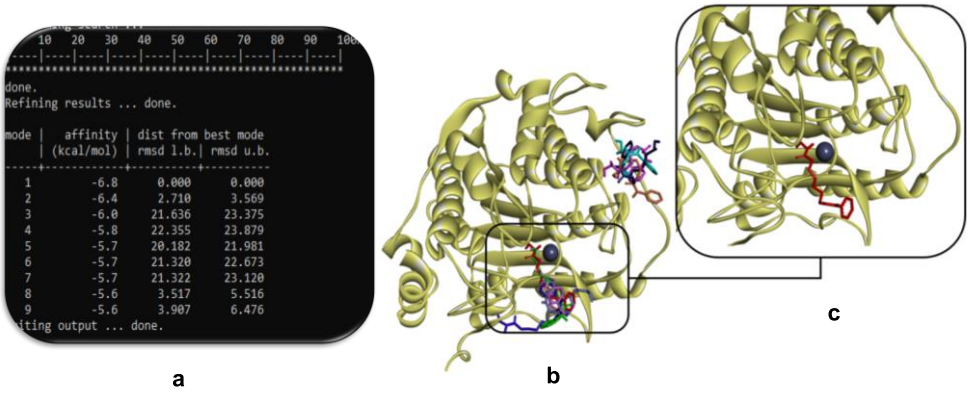
Docking phân tử giữa ligand và enzyme được thực hiện bằng bộ công cụ AutodockTools 1.5.6 có tích hợp sẵn bộ phần mềm Autodock Vina và Autodock 4.2 (Trott and Olson, 2010; Rizvi *et al.*, 2013). Kết quả chỉ ra tương tác giữa vorinostat với enzyme, biểu diễn các tương tác trên mặt phẳng 2D được phân tích bằng phần mềm Discovery Studio 2019 Client (Accerlys, 2005).



Hình 5: Quy trình docking phân tử sử dụng kết hợp AutoDock Vina và AutoDock

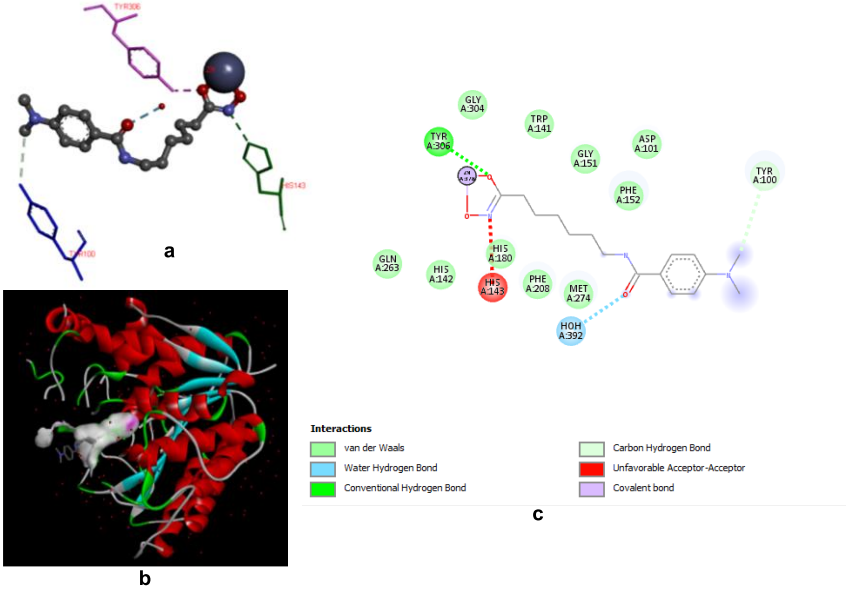
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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. Chương trình AutoDockTools phiên bản v1.5.6 được sử dụng để tiến hành docking phân tử. Trong đó, quá trình docking mù (blind docking) chọn ra vị trí và tư thế hoạt động tốt nhất của ligand đối với enzyme. Sử dụng hộp giản đồ có kích thước ba chiều là 60×60×60 điểm, bao trùm lấy toàn bộ enzyme, khoảng cách giữa các điểm là 1,000 Å, sử dụng vị trí trung tâm enzyme HDAC8 làm chuẩn. Kết quả đầu ra của Vina (Hình 6), tư thế ligand đầu tiên được coi là tốt nhất vì nó có ái lực ràng buộc hơn các ligand có tư thế khác và không có bất kỳ giá trị RMSD nào (Trott and Olson, 2010). Khi đã chọn ra vị trí tương tác tốt nhất, quá trình docking phân tử được thực hiện. Hộp giản đồ có kích thước ba chiều là 60x60x60 điểm, khoảng cách giữa các điểm là 0,150 Å, giản đồ được đặt vào trung tâm ligand, sử dụng vị trí trung tâm ligand làm chuẩn. Tính toán docking phân tử diễn ra với ligand linh hoạt (flexible ligand) và protein cố định (fixed protein). Trong tính toán docking, thuật toán di truyền Lamarkian (LGA) được sử dụng để tìm kiếm mảnh ghép. Các tham số tính toán được sử dụng bao gồm: (i) số lần chạy GA (number of GA run): 200 lần; (ii) số cá thể trong nhóm (population size): 150; (iii) số đánh giá năng lượng cực đại (a maximum number of energy evals): 250000; (iv) số lượng thế hệ con cực đại (a maximum number of generations): 27000; (v) chênh lệch độ lệch căn quân phương giữa các đám cấu dạng (RMS cluster tolerance): 1.0 Å. (vi) cấu trúc so sánh cho tính toán độ lệch căn quân phương (reference structure for RMS calculation): efz. Các tham số còn lại được giữ nguyên giống tham số mặc định của chương trình. Kết quả cho thấy ligand vorinostat tương tác vào vị trí hoạt động được dự đoán của HDAC8 (1T67).

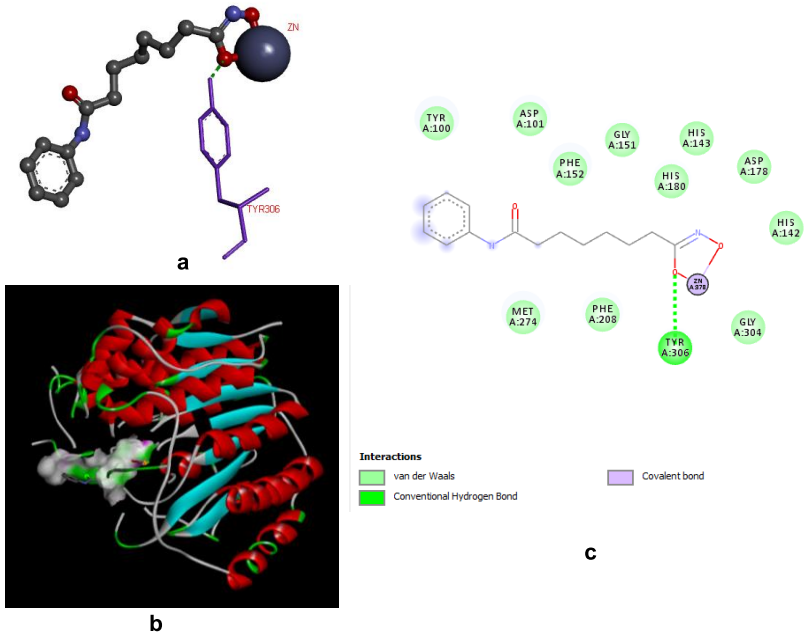


Hình 6: (a) Kết quả tệp đầu ra docking mù bằng Autodock Vina; (b) Mô phỏng 9 ligand (đỏ, cam, vàng, lục, lam, chàm, tím, xám, xanh lơ) của kết quả docking mù và vùng tương tác trên enzyme; (c) Ligand đầu tiên (đỏ) được xem là có tư thế tương tác tốt nhất

Kết quả docking phân tử được 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 đạc 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 chung của enzyme HDAC gồm hai phần chính: 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). Mức độ tương tác tốt của vorinostat với trung tâm hoạt động của HDAC8 (1T67) gần tương tự với kết quả tương tác của MS-344 trên HDAC8 (1T67) (Hình 7) và vorinostat trên HDAC8 (1T69) (Hình 8) đã được Somoza và cộng sự công bố trước đó trên Protein data bank (Somoza *et al.*, 2004). Trong đó, kết quả vorinostat trên 1T69 và MS-344 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, nhiều tương tác van der Waals.

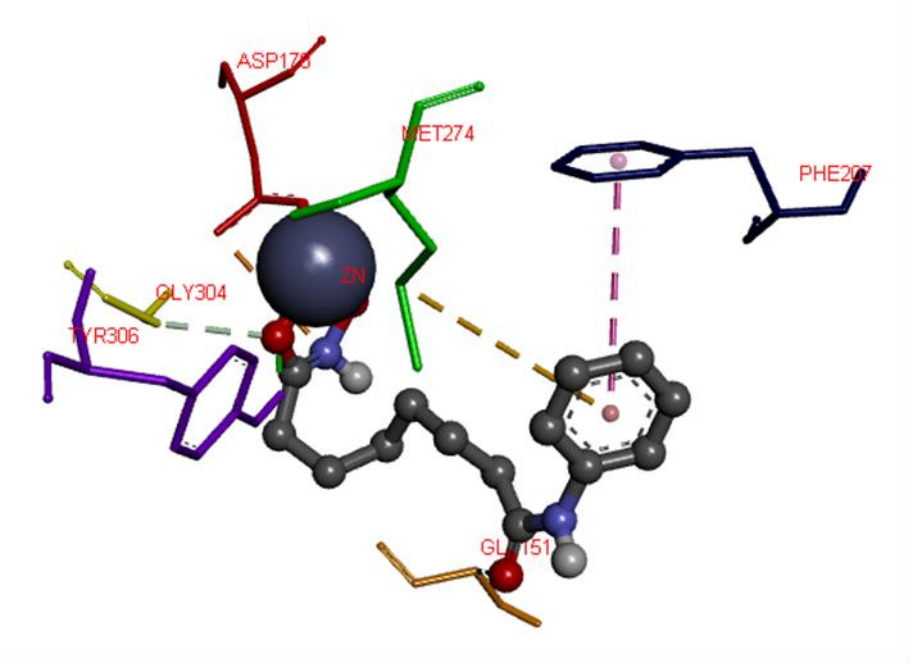


Hình 7: Tương tác của MS-344 với enzyme HDAC8 (1T67): (a) Các tương tác chính của MS-344 với các amino acid His143 (lục), Tyr100 (lam), Tyr306 (tím) và tạo phức với ion Zn^{2+}; (b) Hình dạng túi liên kết của MS-344 trên enzyme; (c) Các tương tác được hiển thị dưới dạng 2D của MS-344

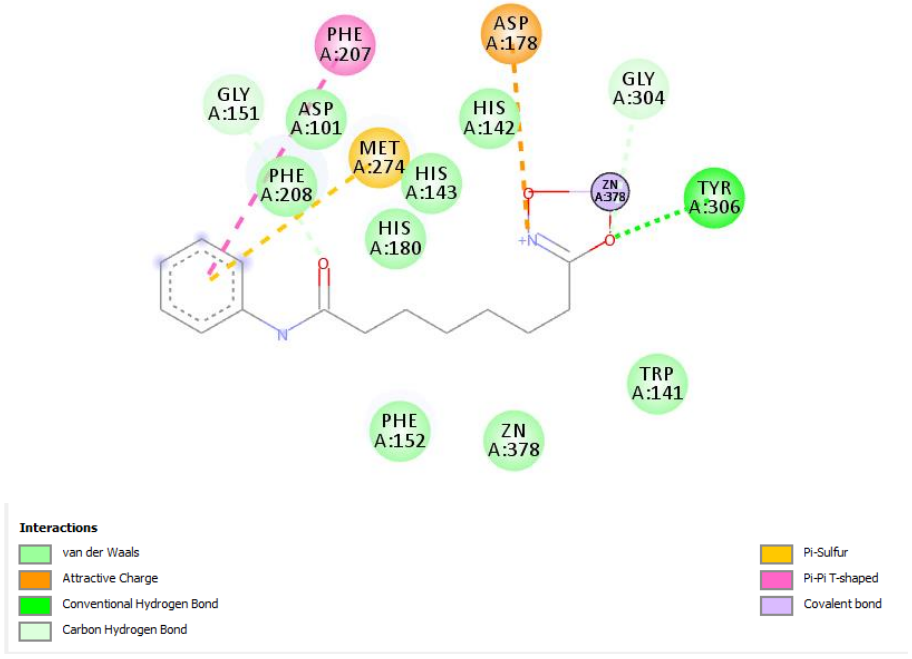


Hình 8: Tương tác vorinostat trên enzyme HDAC8 (1T69): (a) Tương tác chính của vorinostat với amino acid Tyr306 (tím) và tạo phức với ion Zn^{2+}; (b) Hình dạng túi liên kết của vorinostat trên enzyme; (c) Các tương tác được hiển thị dưới dạng 2D của vorinostat

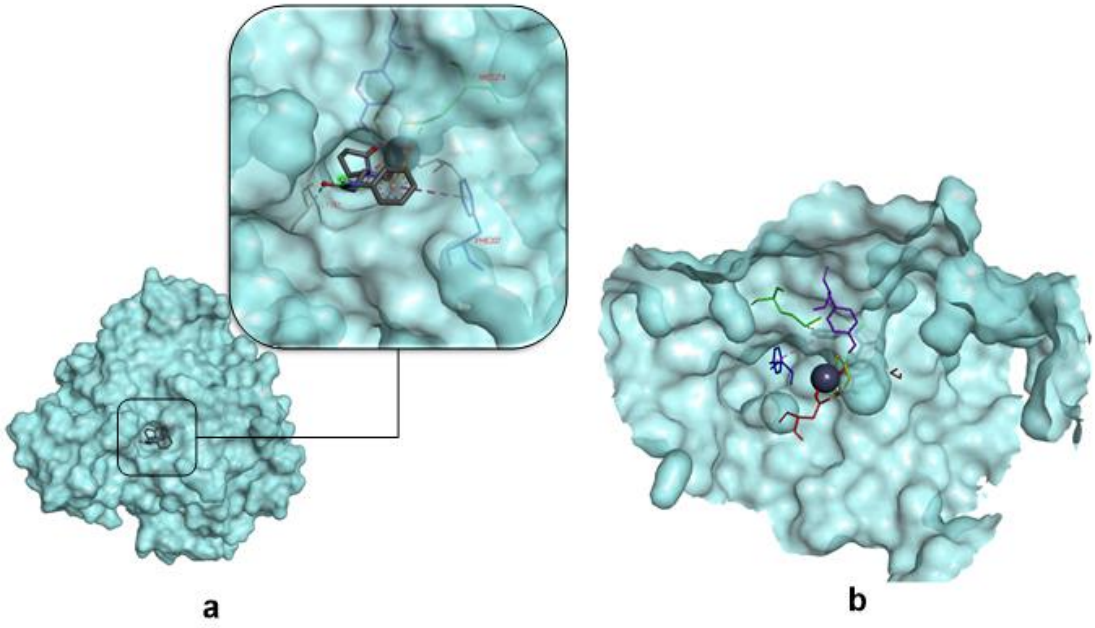
So sánh với mô hình tinh thể enzyme HDAC8 (1T69) gắn vorinostat và HDAC8 (1T67) gắn MS-344 đã công bố, thấy được có sự giống nhau về vị trí tương tác, túi liên kết, tạo phức với Zn^{2+} và hình dạng giữa ligand với HDAC8 (Hình 9) (Hình 10). Cho thấy tiềm năng ứng dụng phần mềm Autodock để nghiên cứu tương tác giữa các cấu trúc thuốc với HDAC8 (1T67) là khả thi. Cụ thể, năng lượng tương tác giữa ligand và enzyme là -6.86 kcal/mol, giá trị RMSD là 1.706 Å, hằng số ức chế dự đoán K_i = 9.43 µM. Vorinostat tương tác với các amino acid vòng thơm kỵ nước Phe208, Phe152, Trp141 bằng lực hút van der Waals. Các amino acid thân dầu này được xem như các yếu tố cần trong việc ổn định phần liên kết của các chất ức chế với enzyme (Estiu *et al.*, 2010). Tương tác hút mạnh giữa vòng thơm của ligand và vòng thơm của nhánh amino acid thơm Phe207. Trong một nghiên cứu của Wang và cộng sự năm 2015 đã chỉ ra rằng Phe207 đóng một vai trò quan trọng trong việc giảm hoạt động của các đột biến enzyme CYP2E1 (Cytochrome P450(CYP) 2E1) trong các tế bào ung thư (Wang *et al.*, 2015). Đồng thời vorinostat chui sâu vào enzyme, nhóm chức hydroxamate tạo phức vòng với ion Zn^{2+}, hình thành liên kết hydro với amino acid thơm kỵ nước Tyr306. Đây được xem là trung tâm hoạt động chính góp phần ức chế HDAC8 (Debnath *et al.*, 2019). Ion Zn^{2+} tạo điều kiện cho quá trình thuỷ phân amide nằm ở đáy túi hoạt động, ngay phía trên là các amino acid Tyr306 và His180 làm xúc tác (Hình 10) (KrennHrubec *et al.*, 2007). Hai amino acid Gly304 và Gly151 tạo liên kết hydrogen với hai nhóm carbonyl của vorinostat. Vorinostat tạo tương tác pi-sulfur giữa vòng phenyl với amino acid thơm Met274. Hình dạng của túi hoạt động do vorinostat tạo ra tương đối sâu (Hình 12), phần vành của túi được hình thành bởi ba amino acid là Phe152, Phe208 và Met274 tham gia tương tác với vùng khoá hoạt động trên vorinostat (KrennHrubec *et al.*, 2007). Các phân tích trên cho thấy khá trùng khớp và hợp lý với kết quả về thông tin cấu trúc các thuốc trong nghiên cứu của He và cộng sự về "Lập bản đồ các liên kết ràng buộc của các chất ức chế HDAC8", bằng phương pháp gắn kết, kết hợp với nhãn quang hoá (BEProFL) của He và cộng sự năm 2009 (He *et al.*, 2009; Estiu *et al.*, 2010).



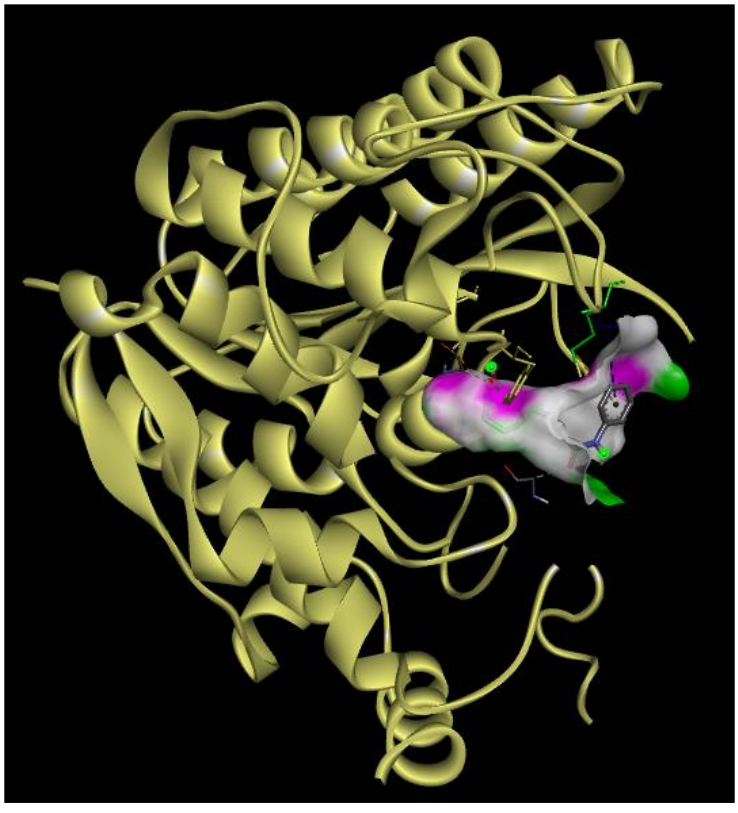
Hình 9: Kết quả docking vorinostat với enzyme HDAC8 (1T67) bằng Autodock được hiển thị dưới dạng 3D, tương tác mạnh với các amino acid Phe207 (lam), Gly151 (cam), Met274 (lục), Asp178 (đỏ), Gly304 (vàng), Tyr306 (tím)



Hình 10: Kết quả docking vorinostat với enzyme HDAC8 (1T67) bằng Autodock, hiển thị các tương tác dưới dạng 2D



Hình 11: Vorinostat trên enzyme HDAC8 (1T67) dạng đặc khít: (a) Ligand vorinostat chui vào enzyme tương tác với tâm hoạt động; (b) Ảnh cắt ngang bên trong enzyme cho thấy ligand tương tác với các amino acid và phần đuôi gắn kẽm (cầu màu xám)



Hình 12: Hình dạng túi liên kết của vorinostat trên enzyme HDAC8 (1T67)

HDAC8 được xem là mục tiêu để phát triển các hoạt chất tác động trúng đích để chữa trị các bệnh liên quan đến HDAC8 trong tương lai, và việc phân tích những bất lợi của các cấu trúc sẵn có như vorinostat sẽ là nền tảng hỗ trợ cho các nghiên cứu này. Tuy nhiên, tính linh hoạt và đa dạng của enzyme HDAC8 có thể gây khó khăn cho các phương pháp như vậy, đặc biệt là trong việc thiết kế các chất ức chế chọn lọc loài. Vì vậy, để sử dụng ở người, việc thiếu dữ liệu cấu trúc đặc biệt là trên HDAC8 khiến việc tối ưu hóa hợp lý tính chọn lọc đối với từng enzyme trở nên khó khăn. Nghiên cứu tương tác của vorinostat trên HDAC8 (1T67) bằng Autodock là cơ sở tiền đề, cho thấy sự hứa hẹn trong việc sàng lọc, thiết kế các chất ức chế chọn lọc riêng biệt HDAC8.

4 KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, đã docking phân tử thành công vorinostat vào tâm hoạt động của HDAC8 (1T67) bằng bộ công cụ Autodock. Tối ưu hoá cấu trúc vorinostat, chỉ ra năng lượng tương tác, phân tích vùng tương tác có thể có của vorinostat với HDAC8 (1T67). Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với các nghiên cứu khác đã được công bố, vorinostat ức chế được enzyme HDAC8 (1T67) bằng nhiều liên kết hydro, pi-pi T-shaped, pi-sulfur, van der Waals với các amino acid. Ngoài ra, nghiên cứu này là cơ sở cho các nghiên cứu khác nhằm phát triển các hoạt chất có khả năng ức chế chọn lọc HDAC8 và là 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.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Cần Thơ vì sự tài trợ dành cho nghiên cứu này (Mã đề tài: TSV2020-58).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Alsawalha, M., Bolla, S. R., Kandakatla, N., Srinivasadesikan, V., Veeraraghavan, V. P. and Surapaneni, K. M., 2019. Molecular docking and ADMET analysis of hydroxamic acids as HDAC2 inhibitors. Bioinformation, 15(6): 380- 387.

Anantharaju, P. G., Reddy, D. B., Padukudru, M. A., Chitturi, C. M. K., Vimalambike, M. G. and Madhunapantula, S. V., 2017. Induction of colon and cervical cancer cell death by cinnamic acid derivatives is mediated through the inhibition of Histone Deacetylases (HDAC). PloS One. 12(11): e0186208.

Araújo, P., da Silva, L. P. and Esteves da Silva, J., 2015. Theoretical Analysis of the Binding of Potential Inhibitors to Protein Kinases MK2 and MK3. Med. Chem. 11(6): 573-579.

Bolden, J. E., Peart, M. J. and Johnstone, R. W., 2006. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nature Reviews Drug Discovery. 5(9): 769-784.

Buggy, J. J., Sideris, M. L., Mak, P., Lorimer, D. D., Mcintosh, B., and Clark, J. M., 2000. Cloning and characterization of a novel human histone deacetylase, HDAC8. Biochemical Journal. 350(1): 199-205.

Cai, J., Wei, H., Hong, K. H., *et al*., 2015. Discovery, bioactivity and docking simulation of Vorinostat analogues containing 1, 2, 4-oxadiazole moiety as potent histone deacetylase inhibitors and antitumor agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 23(13): 3457-3471.

Chakrabarti, A., Oehme, I., Witt, O., *et al*., 2015. HDAC8: a multifaceted target for therapeutic interventions. Trends in Pharmacological Sciences. 36(7): 481-492.

Debnath, S., Debnath, T., Bhaumik, S., *et al*., 2019. Discovery of novel potential selective HDAC8 inhibitors by combine ligand-based, structure-based virtual screening and in-vitro biological evaluation. Scientific Reports. 9(1): 1-14.

Decroos, C., Christianson, N. H., Gullett, L. E., *et al*., 2015. Biochemical and structural characterization of HDAC8 mutants associated with Cornelia de Lange syndrome spectrum disorders. Biochemistry. 54(42): 6501-6513.

Estiu, G., West, N., Mazitschek, R., *et al*., 2010. On the inhibition of histone deacetylase 8. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 18(11): 4103-4110.

Falkenberg, K. J. and Johnstone, R. W., 2014. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. Nature Reviews Drug Discovery. 13(9): 673-691.

Gantt, S. M. L., Decroos, C., Lee, M. S., *et al*., 2016. General base–general acid catalysis in human histone deacetylase 8. Biochemistry. 55(5): 820-832.

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.

Grant, S., Easley, C. and Kirkpatrick, P., 2007. Vorinostat. Nature Reviews Drug Discovery. 6(1): 21-22.

He, B., Velaparthi, S., Pieffet, G., *et al*., 2009. Binding ensemble profiling with photoaffinity labeling (BEProFL) approach: mapping the binding poses of HDAC8 inhibitors. Journal of Medicinal Chemistry. 52(22): 7003-7013.

Hu, E., Chen, Z., Fredrickson, T., *et al*., 2000. Cloning and characterization of a novel human class I histone deacetylase that functions as a transcription repressor. Journal of Biological Chemistry. 275(20): 15254-15264.

Huang, Y.x., Zhao, J., Song, Q.h., *et al*., 2016. Virtual screening and experimental validation of novel histone deacetylase inhibitors. BMC Pharmacology and Toxicology. 17(1): 32-46.

Hutchison, G. R., Morley, C., James, C., *et al*., 2011. Open Babel Documentation.

Johnstone, R. W., 2002. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. Nature Reviews Drug Discovery. 1(4): 287-299.

Kaiser, F. J., Ansari, M., Braunholz, D., *et al*., 2014. Loss-of-function HDAC8 mutations cause a phenotypic spectrum of Cornelia de Lange syndrome-like features, ocular hypertelorism, large fontanelle and X-linked inheritance. Human Molecular Genetics. 23(11): 2888-2900.

KrennHrubec, K., Marshall, B. L., Hedglin, M., Verdin, E. and Ulrich, S. M., 2007. Design and evaluation of 'Linkerless' hydroxamic acids as selective HDAC8 inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 17(10): 2874-2878.

Lee, H., Sengupta, N., Villagra, A., Rezai-Zadeh, N. and Seto, E., 2006. Histone deacetylase 8 safeguards the human ever-shorter telomeres 1B (hEST1B) protein from ubiquitin-mediated degradation. Molecular and Cellular Biology. 26(14): 5259-5269.

Li, Y. and Seto, E., 2016. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 6(10): a026831.

Marek, M., Kannan, S., Hauser, A. T., *et al*., 2013. Structural basis for the inhibition of histone deacetylase 8 (HDAC8), a key epigenetic player in the blood fluke Schistosoma mansoni. PLoS Pathogens. 9(9): e1003645.

Marek, M., Shaik, T. B., Heimburg, T., *et al*., 2018. Characterization of histone deacetylase 8 (HDAC8) selective inhibition reveals specific active site structural and functional determinants. Journal of Medicinal Chemistry. 61(22): 10000-10016.

Mottamal, M., Zheng, S., Huang, T. L. and Wang, G., 2015. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new anticancer agents. Molecules. 20(3): 3898-3941.

Oehme, I., Deubzer, H. E., Lodrini, M., Milde, T. and Witt, O., 2009. Targeting of HDAC8 and investigational inhibitors in neuroblastoma. Expert Opinion on Investigational Drugs. 18(11): 1605-1617.

Ortore, G., Colo, F. D. and Martinelli, A., 2009. Docking of hydroxamic acids into HDAC1 and HDAC8: a rationalization of activity trends and selectivities. Journal of Chemical information and Modeling. 49(12): 2774-2785.

Parbin, S., Kar, S., Shilpi, A., *et al*., 2014. Histone deacetylases: a saga of perturbed acetylation homeostasis in cancer. Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 62(1): 11-33.

Porter, N. J. and Christianson, D. W., 2017. Binding of the microbial cyclic tetrapeptide trapoxin A to the class I histone deacetylase HDAC8. ACS Chemical Biology. 12(9): 2281-2286.

Porter, N. J., Christianson, N. H., Decroos, C. and Christianson, D. W., 2016. Structural and functional influence of the glycine-rich loop G302GGGY on the catalytic tyrosine of histone deacetylase 8. Biochemistry. 55(48): 6718-6729.

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: 831-857.

Siegel, D., Hussein, M., Belani, C., *et al*., 2009. Vorinostat in solid and hematologic malignancies. Journal of Hematology & Oncology. 2(1): 31-42.

Somoza, J. R., Skene, R. J., Katz, B. A., *et al*., 2004. Structural snapshots of human HDAC8 provide insights into the class I histone deacetylases. Structure. 12(7): 1325-1334.

Son, C. H., Keum, J. H., Yang, K., *et al*., 2014. Synergistic enhancement of NK cell-mediated cytotoxicity by combination of histone deacetylase inhibitor and ionizing radiation. Radiation Oncology. 9(1): 49-59.

Tabackman, A. A., Frankson, R., Marsan, E. S., Perry, K. and Cole, K. E., 2016. Structure of 'linkerless' hydroxamic acid inhibitor-HDAC8 complex confirms the formation of an isoform-specific subpocket. Journal of Structural Biology. 195(3): 373-378.

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.

Van den Wyngaert, I., de Vries, W., Kremer, A., *et al*., 2000. Cloning and characterization of human histone deacetylase 8. FEBS Letters. 478(1-2): 77-83.

Vannini, A., Volpari, C., Filocamo, G., *et al*., 2004. Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC8, complexed with a hydroxamic acid inhibitor. Proceedings of the National Academy of Sciences. 101(42): 15064-15069.

Wagner, T., Godmann, M. and Heinzel, T., 2017. Analysis of histone deacetylases sumoylation by immunoprecipitation techniques. In. HDAC/HAT Function Assessment and Inhibitor Development. Springer, 339-351.

Wang, Y., Zheng, Q., Zhang, J., *et al*., 2015. How mutations affecting the ligand-receptor interactions: a combined MD and QM/MM calculation on CYP2E1 and its two mutants. Chemical Research in Chinese Universities. 31(6): 1029-1038.

Whitehead, L., Dobler, M. R., Radetich, B., *et al*., 2011. Human HDAC isoform selectivity achieved via exploitation of the acetate release channel with structurally unique small molecule inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 19(15): 4626-4634.

Yamauchi, Y., Boukari, H., Banerjee, I., *et al*., 2011. Histone deacetylase 8 is required for centrosome cohesion and influenza A virus entry. PLoS Pathogens. 7(10): e1002316.