

Nghiên cứu docking phân tử các hợp chất ức chế xanthine oxidase của cây Gắm lá nhỏ (*Gnetum parvifolium* (Warb.) W.C.Cheng)

Bùi Quốc Dũng*

Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

*Tác giả liên hệ: Bùi Quốc Dũng; Email: bqdung@bmu.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 05/08/2025; Ngày duyệt đăng (Accepted): 01/04/2026; Ngày xuất bản (Published): 28/06/2026

DOI:10.34071/jmp.2026.3.593

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Gout là một bệnh rối loạn chuyển hóa phổ biến, có liên quan đến sự tăng acid uric máu do hoạt động của enzyme xanthine oxidase. Việc tìm kiếm các chất ức chế xanthine oxidase có nguồn gốc tự nhiên đang nhận được nhiều sự quan tâm nhằm mở rộng nguồn hợp chất tiềm năng và đa dạng hóa lựa chọn điều trị tăng acid uric máu. Nghiên cứu trước đây cho thấy dịch chiết của cây Gắm lá nhỏ (*Gnetum parvifolium*) ức chế hiệu quả xanthine oxidase.

Mục tiêu: Đánh giá tiềm năng ức chế enzyme xanthine oxidase của từng hợp chất và nhóm hợp chất của cây Gắm lá nhỏ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 58 hợp chất từ cây Gắm lá nhỏ được docking phân tử với enzyme xanthine oxidase (tinh thể 2E1Q). Phần mềm MOE và LeadIT được sử dụng để chuẩn bị cấu trúc protein, phối tử và thực hiện docking nhằm thu nhận các cấu hình gắn kết tối ưu và tính toán điểm số docking phục vụ phân tích. Dữ liệu được phân tích bằng Pandas và trực quan hóa bằng Seaborn và Matplotlib để minh họa sự phân bố điểm số docking giữa các nhóm hợp chất.

Kết quả: 38 hợp chất đạt điểm docking dưới -15 kJ/mol, trong đó 11 hợp chất có điểm số docking nhỏ hơn allopurinol. Các hợp chất nổi bật là acid p-coumaric (-30,94 kJ/mol), trigonellin (-29,80 kJ/mol) và apigenin (-24,48 kJ/mol). Nhóm phenylpropanoid (C6-C3), alkaloid, flavonoid, stilbenoid có nhiều đại diện tiềm năng với điểm số docking thấp, gợi ý khả năng tương tác thuận lợi với enzyme.

Kết luận: Cây Gắm lá nhỏ chứa nhiều hợp chất có tiềm năng sinh học trong điều trị gout. Nghiên cứu khuyến nghị thực hiện thêm các khảo nghiệm *in vitro* để xác thực hiệu quả thực tế.

Từ khóa: *Gnetum parvifolium*; Gắm lá nhỏ; docking; xanthine oxidase; ức chế.

Molecular docking study of xanthine oxidase inhibitory compounds from *Gnetum parvifolium* (Warb.) W.C.Cheng

Bui Quoc Dung

Buon Ma Thuot Medical University

Abstract

Background: Gout is a common metabolic disorder associated with elevated blood uric acid levels due to the activity of the enzyme xanthine oxidase. The search for natural xanthine oxidase inhibitors has attracted considerable interest in order to expand the pool of potential compounds and diversify therapeutic options for the treatment of hyperuricemia. Previous studies have shown that extracts of *Gnetum parvifolium* effectively inhibit xanthine oxidase.

Objective: To evaluate the xanthine oxidase inhibitory potential of individual compounds and compound groups derived from *Gnetum parvifolium*.

Materials and methods: 58 compounds from *Gnetum parvifolium* were subjected to molecular docking with the enzyme xanthine oxidase (crystal structure 2E1Q). MOE and LeadIT software were used to prepare the protein and ligand structures, and conduct molecular docking to obtain optimal binding conformations and calculate docking scores for subsequent analysis. The data were analyzed with Pandas and visualized using the Seaborn and Matplotlib libraries to illustrate the distribution of docking scores among compound groups.

Results: A total of 38 compounds achieved docking scores below -15 kJ/mol, of which 11 compounds had scores lower than allopurinol. Notable compounds include p-coumaric acid (-30.94 kJ/mol), trigonelline (-29.80

kJ/mol), and apigenin (-24.48 kJ/mol). The phenylpropanoid (C6-C3), alkaloid, flavonoid, and stilbenoid groups contain several promising representatives with low docking scores, suggesting favorable interactions with the enzyme.

Conclusions: *Gnetum parvifolium* contains numerous bioactive compounds with potential for the treatment of gout. Further *in vitro* assays are recommended to validate their practical efficacy.

Keywords: *Gnetum parvifolium*; inhibition; docking; xanthine oxidase.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gout là một bệnh phổ biến và đặc trưng bởi giai đoạn viêm khớp cấp tính với các triệu chứng như sưng, nóng, đỏ, đau dữ dội và đột ngột ở một hoặc nhiều khớp, phổ biến nhất là ở khớp ngón chân cái. Đây là một bệnh lý chuyển hóa, xảy ra khi nồng độ acid uric tăng cao, hình thành các tinh thể natri urat và lắng đọng trong các khớp và các mô xung quanh khớp. Có nhiều nguyên nhân có thể dẫn đến tăng acid uric máu, chẳng hạn như tăng sản xuất acid uric hoặc giảm đào thải acid uric qua nước tiểu. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng xanthine oxidase có liên quan mật thiết đến việc tăng sản xuất acid uric [1]. Xanthine oxidase là một enzyme được tìm thấy ở nhiều loài, bao gồm cả ở người, có chức năng chủ yếu trong quá trình dị hóa base purin. Thông qua một loạt các phản ứng, purin, guanine monophosphat và adenosin monophosphat được chuyển đổi thành hypoxanthine hoặc xanthine. Phản ứng phân hủy hypoxanthine và xanthine được xúc tác bởi xanthine oxidase và chuyển hóa thành acid uric. Acid uric sau đó được enzyme uricase chuyển đổi thành allantoin, một phân tử hòa tan trong nước được bài tiết qua nước tiểu [2].

Cây Gấm lá nhỏ còn có tên gọi khác là Dây mối, tên khoa học *Gnetum parvifolium* (Warb.) W.C.Cheng, tên đồng nghĩa *Gnetum indicum* (Lour.) Merr., *Gnetum montanum* f. *megalocarpum* Markgr. [3, 4]. Cây thân dây leo cao tới 12 m, đường kính trung bình 2 - 4 cm. Vỏ cây mỏng màu nhạt hoặc nâu xám, thân cây có nhiều mấu. Lá mọc đối, dày, dai, hình elip hoặc hình trứng hoặc hình thận kích thước 2,5 - 10 x 1,5 - 5 cm, không có lông, gân bên 5 - 8 đôi mỗi bên. Cụm hoa đực đơn giản, mọc ở nách lá hay ở thân, cuống mảnh. Cụm hoa cái mọc trên cành già, phân nhánh, cuống dày 2 - 3 mm, dài 1,5 - 2 cm. Một số nghiên cứu đã xác định cây chứa các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học như stilbenoid, flavonoid và alkaloid. Kết quả định tính cây Gấm lá nhỏ thu hái tại Hòa Bình bằng phương pháp hóa học cho thấy sự xuất hiện của các hợp chất tanin, saponin, chất béo, anthranoid, flavonoid [5]. Thân và rễ của loài này thường được dùng làm thuốc tự nhiên trong điều trị thấp khớp, đau nhức

chân tay, nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính, viêm phế quản mãn tính và chấn thương ở Trung Quốc. Dịch chiết của *Gnetum parvifolium* ức chế hiệu quả xanthine oxidase *in vitro* và làm giảm nồng độ acid uric trong máu ở chuột [6].

Các hợp chất đơn lẻ phân lập từ cây Gấm lá nhỏ tuy đã được báo cáo trong nhiều tài liệu, nhưng hầu như chưa được đánh giá một cách hệ thống về tiềm năng gắn kết và ức chế enzyme xanthine oxidase ở cấp độ phân tử. Trong bối cảnh đó, phương pháp tính toán như docking phân tử là công cụ hữu hiệu để sàng lọc và đánh giá ban đầu hoạt tính của các hợp chất tự nhiên một cách nhanh chóng và tiết kiệm chi phí. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm sàng lọc và đánh giá khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase của các hợp chất có trong cây Gấm lá nhỏ bằng phương pháp docking phân tử, từ đó xác định các ứng viên tiềm năng cho nghiên cứu phát triển thuốc hoặc thực phẩm bảo vệ sức khỏe trong điều trị tăng acid uric máu và bệnh gout.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cấu trúc hoá học của các hợp chất trong cây Gấm lá nhỏ *Gnetum parvifolium* (và các tên đồng nghĩa) thuộc họ Dây gấm (Gnetaceae) được thu thập từ các bài báo khoa học.

Tinh thể 2E1Q được tải về từ RCSB PDB (rcsb.org). 2E1Q là cấu trúc tinh thể của một dạng đột biến enzyme xanthine oxidoreductase ở người (Glu803Val). Cấu trúc này được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X với độ phân giải 2,60 Å. Đột biến Glu803Val đã làm giảm mạnh hoạt tính với cơ chất purin, và đặc biệt khiến enzyme mất đáp ứng với ức chế phụ thuộc thời gian của allopurinol [7]. Do đó Glu803 cần được phục hồi lại trong MOE để mô phỏng đúng đặc tính của enzyme xanthine oxidase hoang dại. Phân tích chồng cấu trúc vùng gắn cơ chất trước và sau khi phục hồi Glu803 cho thấy độ lệch RMSD tổng thể chỉ 0,034 Å khi so sánh các nguyên tử C α , chứng tỏ khung chính của vùng hoạt động hầu như không thay đổi. Sai khác đáng kể nhất xuất hiện tại vị trí 803 (0,142 Å), phản ánh sự thay đổi mạch nhánh do thay thế Val bằng Glu, trong khi cấu

trúc không gian tổng thể vẫn được bảo tồn. Như vậy, việc phục hồi Glu803 không gây biến đổi hình thái đáng kể của trung tâm xúc tác.

2E1Q có 4 chuỗi đại phân tử A, B, C, D có độ dài tương tự nhau 1333 acid amin. Phối tử trong tinh thể gồm có FAD: flavin-adenine dinucleotide, MTE: phosphonic acid mono-(2-amino-5,6-dimercapto-4-oxo-3,7,8a,9,10,10a-hexahydro-4h-8-oxa-1,3,9,10-tetraaza-anthracen-7-ylmethyl)ester, FES: Fe_2S_2 (inorganic) cluster, MOM: hydroxy(dioxo) molybdenum, SAL: 2-hydroxybenzoic acid, BCT: bicarbonate ion, CA: calcium ion. Cofactor gồm có [2Fe-2S] cluster, FAD, Mo-molybdopterin. Phối tử SAL gắn tại vị trí MoCo trong trung tâm hoạt động của enzyme, vốn là vị trí xúc tác chính của enzyme trong phản ứng oxy hóa purine, giúp xác định vị trí tương tác liên kết hydro [7]. Tuy nhiên, vì SAL không tham gia phản ứng sinh lý, cũng không phải là chất ức chế được sử dụng phổ biến nên cấu trúc của allopurinol, một thuốc thông dụng trên thị trường, được sử dụng như là chất ức chế tham chiếu trong docking.

2.2. Phần mềm, phần cứng

Phần mềm, thư viện: Molecular Operating Environment (MOE) 2019.102, LeadIT2.1.8, ChemDraw 18.1, Visual Studio Code 1.102.2, Pandas 2.1.4, Seaborn 0.13.0, Matplotlib 3.5.3

Hệ điều hành: Windows 11 Pro.

Phần cứng: Bộ xử lý: Intel(R) Core(TM) i7-8700 CPU @ 3.20 GHz 3.19 GHz, RAM 16 GB.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Tiến hành docking lại

Đích tác động được chuẩn bị theo quy trình docking trong 2.3.2. *Docking và phân tích dữ liệu*

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 mô thức gắn kết, điểm số docking, RMSD (căn bậc hai của trung bình bình phương khoảng cách giữa các nguyên tử tương ứng của phối tử ở tư thế (pose) sau khi docking so với phối tử ban đầu). Yêu cầu: RMSD < 2 Å. Ngoài ra, việc docking này còn thực hiện trên allopurinol, là thuốc ức chế xanthine oxidase được sử dụng phổ biến trên thị trường, để ghi nhận và xem xét mô thức gắn kết.

2.3.2. Docking và phân tích dữ liệu

Quy trình docking

Đích tác động được chuẩn bị trong phần mềm MOE. Đầu tiên, phân tử nước, các phối tử phụ và các chuỗi không liên quan bị xóa trong phức hợp, để lại 1 chuỗi protein và phối tử chính thông qua Sequence Editor. Tiếp đến, enzyme trong phức hợp được đột biến bằng công cụ Protein builder thay Val803 bằng Glu803. Sau đó, cấu trúc được sửa chữa, proton hóa, tính điện tích riêng phần, tối ưu hóa hình học, tối thiểu hóa năng lượng bằng công cụ QuickPrep.

Các hợp chất được chuẩn bị trong phần mềm MOE. Các phân tử được chuẩn hóa bằng công cụ Database Wash, bao gồm các bước: loại bỏ tạp chất (ion đối, dung môi), điều chỉnh trạng thái proton, thêm hoặc loại bỏ nguyên tử hydro, tái tạo cấu trúc 2D và 3D, và liệt kê các tautomer tiềm năng. Sau đó, các hợp chất được tối thiểu hoá năng lượng bằng công cụ Energy Minimize trong trường lực MMFF94x.

Việc docking giữa đích tác động và phối tử được thực hiện trong phần mềm LeadIT, bao gồm: chuẩn bị túi gắn kết bằng công cụ Prepare receptor, chọn phối tử để docking, xác định các thông số cho quá trình docking bằng Define FlexX Docking. Mô thức gắn kết được xem trong MOE bằng Ligand Interactions.

Phân loại cấu trúc

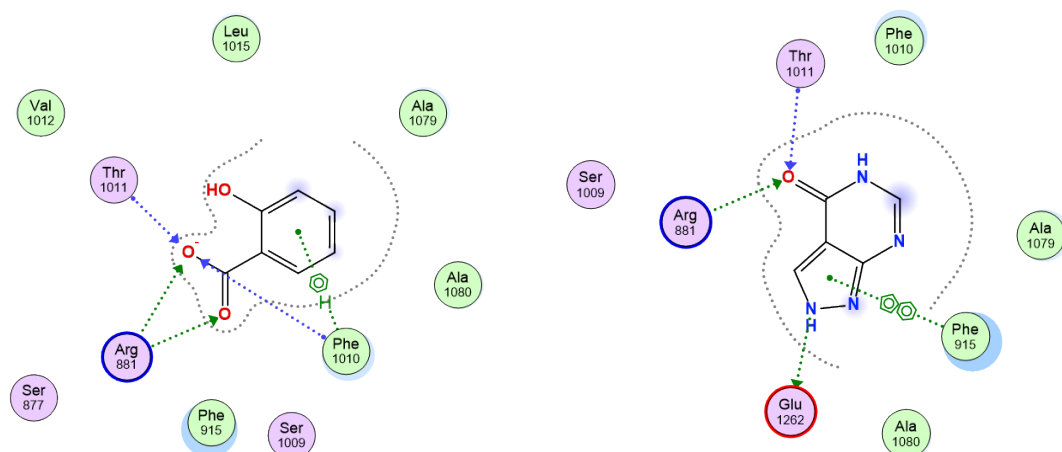
Các hợp chất được phân nhóm cấu trúc dựa trên mạng nơron sâu mang tên NPClassifier của tác giả Hyun Woo Kim [8]. Truy cập trang web: <https://npclassifier.ucsd.edu>, nhập cấu trúc vào ô "Smiles Structure". Trang web sẽ tự động phân loại cấu trúc. Khi quá trình phân loại hoàn tất, kết quả phân loại sẽ hiện trên màn hình gồm có: Pathway (Con đường sinh tổng hợp), Superclass (Nhóm), Class (Phân nhóm), Is glycoside (Có phải glycosid không).

Xử lý, mô tả và phân tích dữ liệu

Việc xử lý và phân tích dữ liệu được thực hiện bằng ngôn ngữ lập trình Python trong môi trường Visual Studio Code. Tập dữ liệu được nhập và xuất thông qua các hàm *read_excel* và *to_excel* từ thư viện Pandas. Các thao tác làm sạch và xử lý dữ liệu sử dụng các hàm như *drop_duplicates*, *groupby*, *sort_values*. Các giá trị thống kê như trung vị, khoảng biến thiên và số lượng phần tử trong mỗi nhóm được tính bằng hàm *agg* sau khi nhóm dữ liệu bằng *groupby*. Việc trực quan hóa dữ liệu được thực hiện bằng thư viện Seaborn và Matplotlib, với các hàm như *stripplot*, *legend*, *xlabel*, *ylabel*. Các giá trị trung vị cho từng nhóm được trực quan hóa bằng cách thêm ký hiệu | trên biểu đồ. Một đường tham chiếu cũng được thêm vào để biểu thị điểm số docking của allopurinol, hỗ trợ so sánh trực quan giữa các hợp chất.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tiến hành docking lại



Hình 1. Mô thức gắn kết giữa SAL PT1 (trái) và allopurinol với xanthine oxidase

SAL PT1 gắn kết chủ yếu thông qua tương tác mạnh với acid amin Arg881 (**Hình 1**), đóng vai trò là điểm neo chính. Cụ thể, nhóm carboxylat trên ligand hình thành các liên kết hydro với các nhóm NH_2 và nitrogen epsilon của Arg881, với khoảng cách lần lượt là 2,80 Å và 2,51 Å, năng lượng -32,2 và -31,4 kJ/mol. Đồng thời, nhóm này còn tham gia liên kết ion với Arg881, trong đó mạnh nhất là tương tác với nitrogen epsilon (khoảng cách 2,51 Å, năng lượng -36,4 kJ/mol). Ngoài ra, một liên kết hydro khác được ghi nhận với Thr1011 (khoảng cách 2,56 Å, năng lượng -24,7 kJ/mol), góp phần gia cố độ bền của phức hợp. Bên cạnh liên kết hydro (khoảng cách 3,05 Å, năng lượng -3,8 kJ/mol), Phe1010 còn tham gia tương tác π -H với vòng thơm của ligand (khoảng cách 3,40 Å, năng lượng -2,1 kJ/mol).

Kết quả docking lại các phối tử với enzyme xanthine oxidase (**Bảng 1**) cho thấy cả ba phối tử PT1,

PT2 và PT3 đều đạt điểm số docking thấp hơn so với allopurinol, gợi ý khả năng tương tác thuận lợi hơn với vị trí hoạt động của enzyme. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) điểm số docking của 3 phối tử là 1,34% cho thấy độ phân tán giữa các điểm số docking thấp. Như vậy, ba phối tử PT1, PT2 và PT3 có mức độ nhất quán cao về điểm số docking với enzyme. Giá trị RMSD của ba phối tử đều nhỏ hơn 2 Å, đạt yêu cầu về độ tin cậy của mô hình docking. Cả ba phối tử và allopurinol đều tương tác nổi bật với acid amin Arg881 thông qua liên kết hydro, cho thấy đây là điểm neo chính trong quá trình gắn kết. Ngoài ra, các phối tử cũng tạo liên kết hydro với Thr1011, giống với mô thức gắn kết của allopurinol (**Hình 1**). Tổng thể, các phối tử mô phỏng cho thấy sự tương tác bền vững với vị trí hoạt động của enzyme, đồng thời mô thức gắn kết có nhiều điểm tương đồng với thuốc chuẩn allopurinol, khẳng định độ tin cậy của mô hình nghiên cứu.

Bảng 1. Kết quả docking lại các phối tử với enzyme xanthine oxidase

Phối tử	ĐSD	RMSD	Mô thức gắn kết
PT1	-31,29	0,52	Arg881 (LK hydro và LK ion), Thr1011 (LK hydro), Phe1010 (LK hydro và TT π -H) (Hình 1)
PT2	-30,61	0,63	Arg881 (LK hydro và LK ion), Thr1011 (LK hydro), Phe1010 (LK hydro)
PT3	-30,54	0,60	Arg881 (LK hydro và LK ion), Thr1011 (LK hydro), Phe1010 (LK hydro)
Allopurinol	-20,47	-	Arg881 (LK hydro), Thr1011 (LK hydro), Glu1262 (LK hydro), Phe915 (TT π - π) (Hình 1)

Ghi chú: ĐSD: điểm số docking (kJ/mol), RMSD (Å), LK: liên kết, TT: tương tác.

3.2. Docking và phân tích dữ liệu

78 hợp chất đã được thu thập trong 9 bài báo từ năm 1966 đến 2019 (bao gồm cả các chất giống nhau) [6, 9-16]. Trong đó, 58 hợp chất có cấu trúc không trùng lặp. Ba con đường sinh tổng hợp chính của các hợp chất trong cây Gấm lá nhỏ được ghi nhận là alkaloid, shikimate và phenylpropanoid, và terpenoid. Trong đó, shikimate và phenylpropanoid là con đường chiếm ưu thế với nhiều nhóm hợp chất như stilbenoid, lignan, flavonoid, isoflavonoid với số lượng hợp chất lớn, đặc biệt stilbenoid chứa đến 14 hợp chất monomeric stilben và 18 hợp chất oligomeric stilben. Nhóm lignan trong con đường này cũng khá đa dạng, bao gồm stilbenolignan, furanoid, neolignan, furofuranoid, aryl naphthalen và aryl tetralin mỗi phân

nhóm có từ 1 đến 3 hợp chất. Hai con đường còn lại có số lượng chất khiêm tốn hơn. Con đường alkaloid gồm các nhóm như nicotinic phenolic acid alkaloid và tyrosin alkaloid, nhưng chỉ có tổng cộng 5 hợp chất. Cuối cùng, terpenoid được đại diện bởi nhóm stigmastan steroid với 2 hợp chất. Thân cây là nguồn chứa hợp chất phong phú nhất, với tổng cộng 51 hợp chất được phát hiện. Trong đó, các hợp chất thuộc con đường shikimate và phenylpropanoid chiếm ưu thế tuyệt đối với 45 hợp chất, theo sau là alkaloid với 5 hợp chất và terpenoid chỉ có 1. Vỏ cây đứng thứ hai với 9 hợp chất, đều thuộc về con đường shikimate và phenylpropanoid, còn lại không ghi nhận sự hiện diện của alkaloid hay terpenoid. Lá cây có số lượng hợp chất thấp nhất với chỉ 1 hợp chất terpenoid.

Bảng 2. Các hợp chất có điểm số docking nhỏ hơn -15 kJ/mol

Hợp chất	ĐSD (kJ/mol)	Hợp chất	ĐSD (kJ/mol)	Hợp chất	ĐSD (kJ/mol)
Acid p-coumaric	-30,94	Gnetifolin M	-19,26	(-)-isolariciresinol-9-O-β-D-glucopyranosid	-17,26
Trigonellin	-29,80	(+)-Lariciresinol	-19,26	Gnetumontanin C	-17,22
Apigenin	-24,48	Pinosylvin	-19,19	Medioresinol	-17,21
Gnetumontanin A	-24,45	Gnetofuran B	-19,18	ε-Viniferin	-16,88
Higenamin	-23,78	Gnetumontanin B	-19,06	Pinoresinol	-16,80
Piceatannol	-23,67	Gnetifolin B	-18,93	Gnetifolin A	-16,19
Rhaponiticin	-22,56	Isorhaponitigenin	-17,86	Gnetumelin A	-15,74
Isorhaponitigenin		(+)-8-(p-hydroxybenzyl)-2,3,10,11-tetrahydroxyprotoberberin	-17,83	(+)-N-methylhigenamin	-15,56
3-(O-beta-D-glucosid)	-21,91				
Rhaponitigenin	-21,20	Gnetumelin C	-17,82	Gnetifolin D	-15,45
Gnetin D	-20,98	Parvifolol D	-17,46	Cis-shegansu B	-15,32
Gnetumontanin D	-20,52	Gnetupendin B	-17,35	Gnetulin	-15,27
Gnetol	-19,94	Resveratrol	-17,27	(-)-N-methylhigenamin N-oxid	-15,02
Oxyresveratrol	-19,92	Gnetumelin B	-17,27		

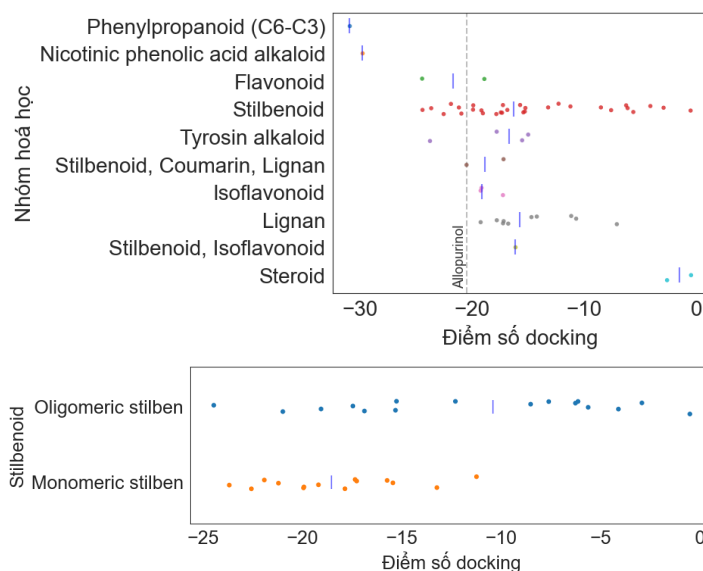
Ghi chú: ĐSD: điểm số docking (đơn vị kJ/mol).

Kết quả sàng lọc docking cho thấy 56 trên 58 hợp chất có thể docking được với điểm số docking từ -30,94 đến -0,49 kJ/mol. 38 hợp chất có điểm số docking nhỏ hơn -15 kJ/mol (**Bảng 2**) và 11 hợp chất có điểm số docking nhỏ hơn allopurinol gồm có acid p-coumaric, trigonellin, apigenin, gnetumontanin A, higenamin, piceatannol, rhaponiticin, isorhaponitigenin 3-(O-beta-D-glucoside), rhaponitigenin, gnetin D, gnetumontanin D (**Hình 2**).

Các hợp chất thu được từ *Gnetum parvifolium* thể hiện điểm số docking đa dạng với enzyme xanthine oxidase, đồng thời phản ánh sự khác biệt đáng kể về tiềm năng ức chế giữa các nhóm cấu trúc

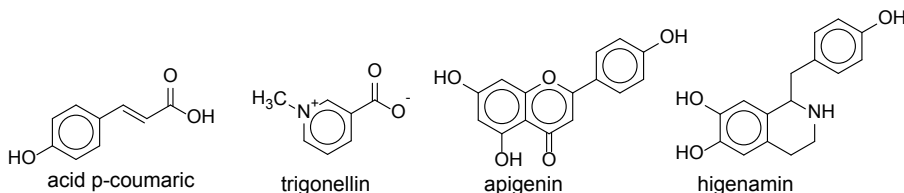
hóa học (**Hình 2**). Nhóm hợp chất có điểm docking âm nhất (phản ánh khả năng tương tác mạnh nhất) là phenylpropanoid (C6-C3) với 1 hợp chất acid p-coumaric (**Hình 3**) có giá trị -30,94 kJ/mol. Tương tự, nhóm nicotinic phenolic acid alkaloid có 1 hợp chất trigonellin với cấu trúc pyridin có điểm số docking -29,80 kJ/mol. Trong khi đó, nhóm tyrosin alkaloid với 4 hợp chất có điểm số docking trải dài từ -23,78 kJ/mol (higenamin) đến -15,02 kJ/mol, với khoảng biến thiên 8,76 kJ/mol, phản ánh sự đa dạng đáng kể trong tương tác liên kết. Nhóm flavonoid có 2 hợp chất là apigenin, gnetifolin B với điểm số docking lần lượt là -24,48 và -18,93 kJ/mol, cho thấy

đây là nhóm tiềm năng với mức độ tương tác tương đối cao. Isoflavonoid gồm 3 hợp chất gnetifolin M, gnetofuran B, gnetumelin B, có trung vị -19,18 kJ/mol, khoảng biến thiên thấp (1,99 kJ/mol).



Hình 2. Điểm số docking phân theo nhóm hoá học (trên) và 2 phân nhóm stilbenoid (dưới).

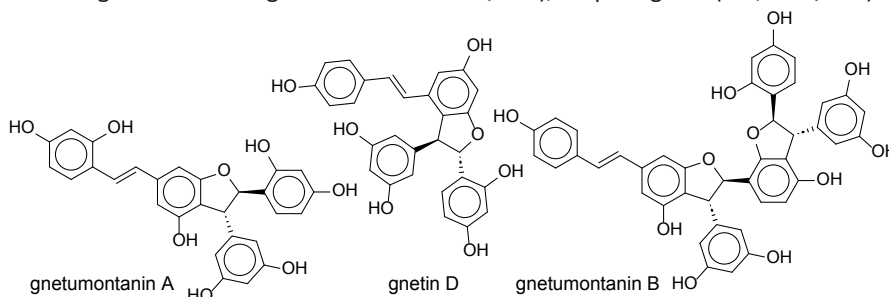
Ghi chú: mỗi chấm tròn tương ứng với một hợp chất. Ký hiệu | là giá trị trung vị của nhóm hợp chất. Một số hợp chất có cấu trúc đồng thời thuộc nhiều nhóm hoá học khác nhau (stilbenoid, coumarin, lignan và stilbenoid, isoflavonoid). Đường nét đứt (---) biểu diễn điểm số docking của allopurinol. Điểm số docking có đơn vị kJ/mol



Hình 3. Các hợp chất acid p-coumaric, trigonellin, apigenin, higenamin

Nhóm stilbenoid là nhóm lớn nhất với 30 hợp chất, có trung vị -16,31 kJ/mol, và đáng chú ý là có dải giá trị rất rộng, từ -24,45 đến -0,53 kJ/mol (khoảng biến thiên 23,92 kJ/mol), thể hiện sự khác biệt rõ rệt giữa các dẫn xuất trong cùng một con đường sinh tổng hợp (Hình 2). Điều này cho thấy mặc dù nhiều hợp chất stilbenoid có tiềm năng liên kết mạnh, vẫn tồn tại một số hợp chất kém tương tác đáng kể. Nhìn chung, monomeric stilben nổi bật với mức độ tương tác mạnh hơn và đồng nhất so với oligomeric stilben.

Monomeric stilben gồm 14 hợp chất, có trung vị điểm số docking -18,53 kJ/mol, với giá trị dao động từ -23,67 đến -11,25 kJ/mol, cho thấy khả năng liên kết tương đối mạnh và khá ổn định (Hình 2). Điều này phản ánh rằng các monomeric stilben nhìn chung có tiềm năng cao trong tương tác với mục tiêu sinh học. Một số hợp chất monomeric stilben tiêu biểu có thể kể đến như piceatannol (-23,67 kJ/mol), rhaponticin (-22,56 kJ/mol), isorhapontigenin 3-(O-beta-D-glucosid) (-21,91 kJ/mol), rhapontigenin (-21,20 kJ/mol)...

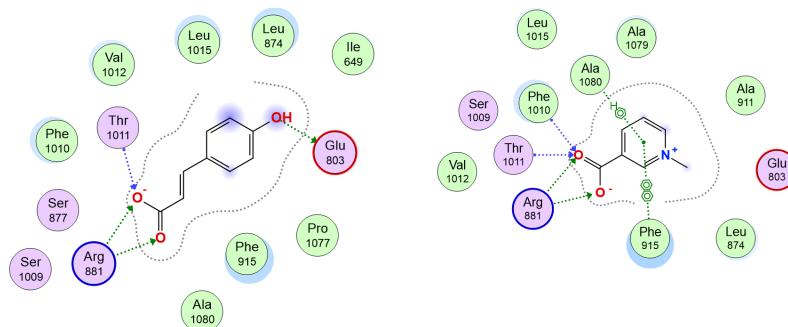


Hình 4. Các hợp chất gnetumontanin A, gnetin D, gnetumontanin B.

Oligomeric stilben gồm 16 hợp chất có trung vị cao hơn đáng kể (-10,42 kJ/mol), với mức dao động rất rộng từ -24,45 đến -0,53 kJ/mol. Đây là nhóm có độ biến thiên lớn nhất (23,92 kJ/mol), cho thấy sự không đồng nhất rõ rệt về mức độ tương tác giữa các oligomeric stilben. Một số hợp chất trong nhóm này vẫn đạt điểm số docking rất âm (mạnh), nhưng cũng có không ít hợp chất liên kết yếu. Các hợp chất tiêu biểu có thể kể đến là gnetumontanin A (-24,45 kJ/mol), gnetin D (-20,98 kJ/mol), gnetumontanin B (-19,06 kJ/mol)... (Hình 4).

Các nhóm hợp chất cấu trúc hỗn hợp như stilbenoid, coumarin, lignan và stilbenoid, isoflavonoid mặc dù chỉ có số lượng hạn chế, vẫn ghi nhận các giá trị đáng chú ý. Cụ thể, 2 hợp chất cấu trúc hỗn hợp stilbenoid, coumarin, lignan là gnetumontanin D và gnetumontanin C có điểm số

docking lần lượt là -20,52 và -17,22 kJ/mol, cho thấy mức độ tương tác trung bình cao. Hợp chất gnetifolin A có cấu trúc hỗn hợp stilbenoid, isoflavonoid ghi nhận điểm số docking -16,19 kJ/mol, nằm trong vùng trung bình so với toàn tập hợp. Nhóm lignan, gồm 10 hợp chất, có trung vị điểm số docking là -15,77 kJ/mol. Khoảng biến thiên khá rộng 12,15 kJ/mol, từ -19,26 (lariciresinol) đến -7,11 kJ/mol, cho thấy khả năng liên kết ở mức trung bình cao đến yếu, phản ánh sự đa dạng đáng kể trong mức độ tương tác của các lignan. Một số hợp chất trong nhóm này tiềm năng, nhưng một số khác lại thể hiện tương tác yếu. Nhóm steroid chỉ gồm 2 hợp chất, có điểm số docking là -2,63 đến -0,49 kJ/mol, cao nhất trong tất cả các nhóm khảo sát, cho thấy tính đồng nhất về mặt tương tác, nhưng đồng thời cũng phản ánh tương tác yếu.



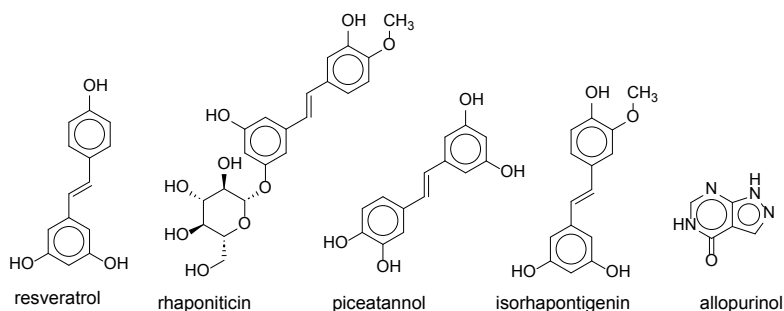
Hình 5. Mô thức gắn kết của acid p-coumaric và trigonellin với xanthine oxidase

Acid p-coumaric thể hiện mức độ gắn kết cao nhất với điểm số docking -30,94 kJ/mol. Nhóm carboxylat tạo liên kết hydro (2,73 Å; -31,4 kJ/mol) và tương tác ion (2,73 Å; -27,6 kJ/mol) với Arg881 (Hình 5). Nhóm hydroxy tạo liên kết hydro với Glu803 (2,82 Å; -25,5 kJ/mol). Nhóm carboxylat cũng tạo liên kết hydro với Thr1011 (2,54 Å; -18,4 kJ/mol), góp phần ổn định cấu hình phân tử trong vị trí hoạt động. Trigonellin (điểm số docking -29,80 kJ/mol) có nhóm carboxylat tạo 2 liên kết hydro (2,73 Å; -31,8 kJ/mol và 2,76 Å; -34,3 kJ/mol) cùng với 2 tương tác ion (2,73 Å; -27,6 kJ/mol và 2,76 Å; -26,4 kJ/mol) với Arg881. Ngoài ra,

trigonellin còn hình thành tương tác π - π với Phe915 (3,91 Å) và tương tác π -H với Ala1080 (4,80 Å), góp phần tăng độ ổn định phức hợp.

4. BÀN LUẬN

SAL là phối tử nhỏ gắn tại vùng MoCo của trung tâm hoạt động, do đó redocking SAL chủ yếu xác nhận khả năng tái tạo vị trí gắn kết tại vùng xúc tác chính. Tuy nhiên, việc đánh giá bằng một ligand nhỏ có thể chưa bao quát hoàn toàn không gian túi gắn kết đối với các phân tử lớn và linh hoạt như oligomeric stilben. Do đó, đây là một trong những giới hạn của nghiên cứu.



Hình 6. Các hợp chất resveratrol, rhaponticin, piceatannol, isorhapontigenin, allopurinol

Trong nghiên cứu này, một số hợp chất từ cây Gắm lá nhỏ đã thể hiện tiềm năng ức chế enzyme xanthine oxidase thông qua mô phỏng docking với 11 hợp chất có điểm số docking thấp hơn so với allopurinol. Trên thực tế, một số chất trong nghiên cứu này có giá trị IC_{50} thấp hơn allopurinol. Hợp chất acid p-coumaric có điểm số docking -30,94 kJ/mol. Acid p-coumaric được chứng minh có khả năng ức chế xanthine oxidase với $IC_{50} = 6,8 \mu M$, so với đối chứng allopurinol có IC_{50} là $7,5 \mu M$ [17]. Giá trị IC_{50} của thuốc đối chứng allopurinol có thể thay đổi tùy thuộc vào phương pháp và điều kiện thí nghiệm của từng nghiên cứu. Theo nghiên cứu của Tang và cộng sự, các hợp chất resveratrol, rhaponticin, piceatannol và isorhapontigenin (**Hình 6**) thu được từ *Gnetum parvifolium* đều thể hiện khả năng ức chế xanthine oxidase mạnh hơn allopurinol ($IC_{50} = 52 \mu M$), với các giá trị IC_{50} lần lượt là $3,88 \mu M$; $5,97 \mu M$; $6,44 \mu M$, và $46,75 \mu M$. Trong đó, resveratrol có hiệu quả ức chế cao nhất, tiếp đến là rhaponticin, piceatannol, còn isorhapontigenin yếu nhất nhưng vẫn vượt trội so với allopurinol. Chỉ có piceatannol thể hiện kiểu ức chế cạnh tranh với xanthine oxidase, còn 3 chất còn lại rhaponticin, resveratrol, isorhapontigenin là phi cạnh tranh (uncompetitive) [6]. Cây Gắm lá nhỏ cũng có chứa resveratrol, rhaponticin, piceatannol, isorhapontigenin với điểm số docking lần lượt là -17,27 kJ/mol, -22,56 kJ/mol, -23,67 kJ/mol, -17,86 kJ/mol. Cả 4 chất này đều thuộc nhóm monomeric stilben. Sự không tương ứng giữa điểm docking và giá trị IC_{50} thực nghiệm là điều thường gặp trong nghiên cứu mô phỏng - thực nghiệm, do nhiều nguyên nhân khác nhau. Điểm docking là một ước lượng năng lượng gắn kết lý thuyết dựa trên hàm chấm điểm. Các hạn chế cơ bản hàm chấm điểm là không phản ánh đầy đủ các yếu tố động lực học, linh hoạt của protein và các hiệu ứng dung môi trong quá trình gắn kết [18]. Bên cạnh đó, giá trị IC_{50} còn phụ thuộc mạnh vào cơ chế ức chế enzyme (ức chế cạnh tranh, không cạnh tranh, phi cạnh tranh) mỗi loại có ảnh hưởng khác nhau đến IC_{50} đo được trong thiết lập thử nghiệm [19]. Điều này giải thích tại sao resveratrol có IC_{50} thấp hơn so với rhaponticin, piceatannol và isorhapontigenin nhưng điểm docking lại không phải là thấp nhất trong nhóm. Có ít nhất 5 hợp chất đã được báo cáo có giá trị IC_{50} thấp hơn allopurinol trong các nghiên cứu trước đây. Điều này cho thấy một số hợp chất từ cây Gắm lá nhỏ như acid p-coumaric, resveratrol, rhaponticin, piceatannol, isorhapontigenin có thể được xem là những ứng viên tiềm năng với khả năng ức chế xanthine oxidase *in vitro* đáng chú ý hơn so với thuốc chuẩn.

Xanthine oxidase xúc tác quá trình oxy hóa hypoxanthine thành acid uric. Nghiên cứu của Noriyoshi Masuoka chỉ ra rằng rhapontigenin là chất ức chế mạnh hơn piceatannol, isorhapontigenin và các dẫn xuất resveratrol trong quá trình tạo acid uric với $IC_{50} = 7,9 \mu M$, $K_i = 3,5 \mu M$. Xanthine oxidase cũng xúc tác quá trình khử O_2 tạo gốc superoxide ($O_2^{\cdot -}$), một gốc tự do nguy hiểm gây stress oxy hóa. Trong phản ứng ức chế sự tạo superoxide ($O_2^{\cdot -}$) do xanthine oxidase xúc tác, piceatannol thể hiện hoạt tính mạnh nhất với $IC_{50} = 4,5 \mu M$ và $K_i = 2,2 \mu M$, thấp hơn so với rhapontigenin ($IC_{50} = 6,0 \mu M$; $K_i = 2,4 \mu M$), resveratrol ($IC_{50} = 21 \mu M$; $K_i = 7,1 \mu M$) và isorhapontigenin ($IC_{50} = 99 \mu M$; $K_i = 36 \mu M$). Stilbenoid không chỉ đơn thuần là cạnh tranh với xanthine ở trung tâm xúc tác, mà còn gắn vào vị trí FAD trong xanthine oxidase để ngăn chặn sự hình thành gốc superoxide ($O_2^{\cdot -}$) [20]. Điều này gợi ý rằng cơ chế ức chế của stilbenoid có thể liên quan đến nhiều vị trí chức năng trong enzyme. Do đó, kết quả docking tại miền MoCo trong nghiên cứu này phản ánh tương tác tại trung tâm xúc tác chính, nhưng không loại trừ vai trò của miền FAD trong hoạt tính ức chế tổng thể.

Trong nghiên cứu của Chin Yong Sin và cộng sự, apigenin được phát hiện là chất ức chế enzyme xanthine oxidase có điểm số docking là -8,2 kcal/mol thấp hơn so với allopurinol -5,2 kcal/mol, mô phỏng docking phân tử cho thấy sự tương tác thuận lợi với enzyme xanthine oxidase. Hoạt tính ức chế xanthine oxidase *in vitro* của apigenin và allopurinol lần lượt vào khoảng 74% và 86% [21]. Trong nghiên cứu này, apigenin có điểm số docking -24,48 kJ/mol, tốt hơn so với allopurinol. Do đó, apigenin có thể là chất tiềm năng ức chế xanthine oxidase.

5. KẾT LUẬN

Cây Gắm lá nhỏ có chứa chủ yếu các hợp chất stilbenoid, lignan, flavonoid, alkaloid, terpenoid... Trong đó, phenylpropanoid (C6-C3), alkaloid, flavonoid, stilbenoid, nổi bật với mức độ tương tác mạnh khi gắn kết với xanthine oxidase, là những đối tượng tiềm năng trong nghiên cứu sàng lọc hoạt chất có hoạt tính sinh học. Nhìn chung, monomeric stilben nổi bật với mức độ tương tác mạnh hơn và đồng nhất hơn oligomeric stilben, trong khi oligomeric stilben lại thể hiện sự đa dạng trong khả năng tương tác với enzyme. Kết quả sàng lọc cho thấy có đến 38 trên 58 hợp chất đạt giá trị năng lượng docking dưới -15 kJ/mol, trong đó 11 hợp chất có điểm số docking nhỏ hơn allopurinol. Ba hợp chất có điểm số docking thấp nhất là acid p-coumaric (-30,94 kJ/mol), trigonellin (-29,80 kJ/mol), và apigenin (-24,48 kJ/mol).

Để phát huy tiềm năng ứng dụng của các hợp chất từ cây Gắm lá nhỏ trong điều trị bệnh gout, cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu nhằm làm rõ cơ chế chế enzyme xanthine oxidase ở cấp độ phân tử, từ đó hiểu sâu hơn về cách thức tương tác của từng hợp chất với enzyme đích. Bên cạnh đó, cần lựa chọn và xác định các hợp chất có hoạt tính dựa trên kết quả sàng lọc *in silico* để ưu tiên thử nghiệm hoạt tính sinh học *in vitro*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen TK, Le YT, Ho DV, Nguyen HT, Tran LTT. Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Fatty Acids From *Hedyotis pilulifera*: In Vitro and In Silico Studies. Natural Product Communications. 2023;18(8):1-8.
2. Aziz N, Jamil RT. Biochemistry, Xanthine Oxidase. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). 2019.
3. World Flora Online. *Gnetum parvifolium* (Warb.) W.C.Cheng 2025 [cited 2025 Jul 07]. Available from: <https://worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000795661#synonyms>.
4. Võ Văn Chi. Từ điển Thực vật thông dụng. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật; 2003.
5. Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Thảo, Phạm Thị Huệ, Nguyễn Thị Hiền. Nghiên cứu thành phần hóa học của Cây Gắm (*Gnetum parvifolium*) thu hái tại Hòa Bình. Tạp chí Khoa học sức khỏe - Trường Đại học Y Dược Hải Phòng. 2025;3(1):98-104.
6. Tang X, Tang P, Ma L, Liu L. Screening and evaluation of xanthine oxidase inhibitors from *Gnetum parvifolium* in China. Molecules. 2019;24(14):2671.
7. Yamaguchi Y, Matsumura T, Ichida K, Okamoto K, Nishino T. Human xanthine oxidase changes its substrate specificity to aldehyde oxidase type upon mutation of amino acid residues in the active site: roles of active site residues in binding and activation of purine substrate. Journal of Biochemistry. 2007;141(4):513-24.
8. Kim HW, Wang M, Leber CA, Nothias L-F, Reher R, Kang KB, et al. NPClassifier: a deep neural network-based structural classification tool for natural products. Journal of Natural Products. 2021;84(11):2795-807.
9. Tian L-W, Lv J-J, Liu Y, Song L-Y, Hou L-B, Zhong C, Xie Y. A new dimeric stilbene from the lianas of *Gnetum parvifolium*. Natural product research. 2017;31(13):1495-500.
10. Xu Q, Lin M. Benzylisoquinoline Alkaloids from *Gnetum parvifolium*. Journal of Natural Products. 1999;62(7):1025-7.
11. Li X-m, Lin M, Wang Y-h, Liu X. Four new stilbenoids from the lianas of *Gnetum montanum* f. *megalocarpum*. Planta Medica. 2004;70(2):160-5.
12. Wang LQ, Zhao YX, Zhou L, Zhou J. Lignans from *Gnetum montanum* Markgr. f. *megalocarpua*. Chemistry of Natural Compounds. 2009;45:424-6.
13. Arthur H, Chan RP, Loo S, Tam S, Tung S. New alkaloids from Hong Kong plants. Phytochemistry. 1966;5(3):379-83.
14. Wang L-Q, Zhao Y-X, Hu JM, Jia A-Q, Zhou J. Stilbene Derivatives from *Gnetum montanum* MARKGR. f. *megalocarpum* MARKGR. Helvetica Chimica Acta. 2008;91(1):159-64.
15. Tanaka T, Iliya I, Ito T, Furusawa M, Nakaya K-I, linuma M, et al. Stilbenoids in lianas of *Gnetum parvifolium*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2001;49(7):858-62.
16. Lin M, Li JB, Li SZ, Yu DQ, Liang XT. A dimeric stilbene from *Gnetum parvifolium*. Phytochemistry. 1992;31(2):633-8.
17. Nile SH, Park SW. Antioxidant, α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activity of bioactive compounds from maize (*Zea mays* L.). Chemical Biology & Drug Design. 2014;83(1):119-25.
18. Sharmila B, Radhika M, Aarthi J, Joice P, Priyadarshini M. S, Madhumitha L, et al. A Comprehensive Review of Molecular Docking: Mechanisms, Challenges and Advances. International Journal of Research in Pharmacology & Pharmacotherapeutics. 2025;14(3):511-23.
19. Buker SM, Boriack-Sjodin PA, Copeland RA. Enzyme-Inhibitor Interactions and a Simple, Rapid Method for Determining Inhibition Modality. SLAS Discovery. 2019;24(5):515-22.
20. Masuoka N. Stilbene compounds are specific inhibitors of the superoxide anion generation catalyzed by xanthine oxidase. Food Chemistry: X. 2021;12:100146.
21. Sin CY, Er LK, Ping WS, Hock OG. In Vitro and In Silico Study on the Interaction between Apigenin, Kaempferol and 4-Hydroxybenzoic Acid in Xanthine Oxidase Inhibition. Sains Malaysiana. 2023;52(6):1635-48.