

PHỨC $Ti(PLB)_2$: ỨNG DỤNG TRONG PHÂN TÍCH TITAN BẰNG PHƯƠNG PHÁP UV-VIS VÀ ĐẶC TÍNH KHÁNG KHUẨN/CHỐNG ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TRONG SILICO

Đến tòa soạn 27-03-2024

Tran Nguyen Minh An¹, Nguyen Van Thoi^{1*}, Nguyen Thi Kim Anh², Le Van Tan¹

¹Chemical Engineering Faculty, Industrial University of Ho Chi Minh city, Viet Nam;

²Institute of Biotechnology and Food Technology, Industrial University of Ho Chi Minh city, Viet Nam;

*Email: nvthoi318@gmail.com

SUMMARY

Ti(PLB)₂ COMPLEX: APPLICATIONS IN TITANIUM ANALYSIS BY UV-VIS METHOD AND ANTIBACTERIAL/ANTIDIABETIC PROPERTIES IN SILICO

This research demonstrates that the $Ti(PLB)_2$ complex in solution exhibits a maximum absorption wavelength of 500 nm, the complex has a composition of 1:2, remains stable after 3 minutes at pH=5. It shows linear concentration in the range of 2×10^{-6} - 9×10^{-6} M, with $\varepsilon = 5.47 \times 10^5$ and a stability constant is 8.6×10^4 . The research results indicate that the $Ti(PLB)_2$ complex can be utilized for titanium analysis in solution, as evidenced by barrier ions and repeatability. The $Ti(PLB)_2$ complex showed inhibition of *S. aureus* bacteria. Furthermore, it inhibited the α -glucosidase enzyme in silico through computational models. Calculation results show that the structure of the $Ti(PLB)_2$ complex is pose 159, which is well bound to the 3TOP enzyme, with $\Delta G^0 = -7.66$ Kcal.mol⁻¹ and inhibition constant, $K_i = 2.43 \mu M$, in-depth analysis shows that the complex inhibits the 3TOP enzyme uncompletely. Research pharmacokinetics as drugs, ADMET showed that the complex was less soluble in water (logs and log D) and pharmacological parameters, including drug absorption, drug distribution, drug metabolism, drug excretion and drug toxicity were all within allowable limits. The $Ti(PLB)_2$ complex exhibits strong inhibitory activity against α -glucosidase with an IC50 value of $48.47 \mu M$. This research enhances our understanding of how Plumbagin complexes with metal ions can be used for various purposes.

Keywords: Complex of Ti and Plumbagin, UV-vis, antibacterial activity, ADMEI, Docking.

1. MỞ ĐẦU

Plumbagin (PLB) là một hợp chất tự nhiên chiết xuất từ rễ cây Bạch hoa xà (*Plumbago zeylanica* L.). PLB được biết đến với khả năng chống ung thư hiệu quả trên nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau như vú, cổ tử cung, dạ dày, phổi, tuyến tiền liệt và các khối u ác tính khác. Hợp chất này có khả năng kích hoạt quá trình apoptosis (tế bào chết theo chương trình) và tạo ra các loại oxy phản ứng (ROS), thể hiện hiệu quả ngay cả ở nồng độ thấp [1,2]. Bên cạnh khả năng chống ung thư, PLB còn

sở hữu nhiều hoạt tính sinh học khác như chống viêm, điều trị đái tháo đường, chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống xơ vữa động mạch và giảm đau [3,4]. PLB tác động đến quá trình ung thư bằng cách đảo ngược chu kỳ tế bào, chống hình thành mạch máu, ngăn chặn sự xâm lấn và di căn của tế bào ung thư [5]. Do tầm quan trọng của các tác động này, PLB được nghiên cứu rộng rãi. Ngoài ra, các phức chất của PLB với kim loại cũng đang thu hút sự quan tâm lớn trong cộng đồng khoa học, đánh dấu sự cần thiết của việc tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về các tính năng và ứng dụng của nó.

Titanium (Ti), một kim loại có màu trắng bạc, là nguyên tố phổ biến thứ chín trong vỏ trái đất, tỉ trọng thấp và độ bền cao [6]. Ti(IV) có vai trò quan trọng trong nhiều lĩnh vực như khoa học, nông nghiệp và công nghiệp, đặc biệt trong y tế, trang sức và dược phẩm, nổi bật với đặc tính không độc hại ngay cả ở liều lượng lớn [7]. Ti(IV) có khả năng tạo phức với nhiều loại phối tử, tạo ra các hợp chất có độc tính thấp. Khi thủy phân, Ti(IV) tạo thành titanium dioxide (TiO₂), một hợp chất tương đối trơ và an toàn. Các phức chất của Ti(IV) đặc biệt được chú ý vì tiềm năng trong việc phát triển các thuốc chống ung thư [8].

Trong một nghiên cứu trước đó, các tác giả đã khám phá phức chất của PLB với Ti(IV) trong dung dịch sử dụng phương pháp huỳnh quang [9].

Trong nghiên cứu này, sẽ đi sâu vào việc khảo sát các đặc điểm của việc tạo phức trong dung dịch bằng phương pháp UV-vis, đồng thời khám phá các ứng dụng tiềm năng như phân tích định lượng, khả năng kháng khuẩn, kháng tiêu đường, và ứng dụng các mô hình tính toán trong quá trình nghiên cứu.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị vật tư, hóa chất

Máy đo phổ UV-vis: HITACHI UH5300; Máy đo pH: Hanna HI 2210; Máy quang phổ: BioTek; Cân phân tích; Các dụng cụ thí nghiệm thông thường.

PLB được mua từ Công ty Sigma-Aldrich (Singapore); Các dung môi và hóa chất khác như ethanol, Ti(NH₄)₂F₆, acid nitric (HNO₃), acid clohydric (HCl), natri hydroxide (NaOH), và các muối kim loại đều là loại tinh khiết được mua từ Merck; Dung dịch PLB với nồng độ 2×10^{-5} M và phức Ti(PLB)₂ với nồng độ 2×10^{-5} M được pha trong hỗn hợp ethanol và nước cất theo tỉ lệ 7:3; Phức rắn Ti(PLB)₂ được tổng hợp theo phương pháp được mô tả trong tài liệu [9].

Men *Yeast α -glucosidase*, *p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside* (pNPG), và *4-Nitrophenol* đều được mua từ hãng Sigma.

2.3. Phương pháp thực nghiệm

2.3.1. Khảo sát quá trình tạo phức

Quá trình tạo phức được nghiên cứu sử dụng phương pháp UV-vis, với tốc độ quét 800 nm/phút và khoảng cách dữ liệu là 2 nm.

Thành phần phức, hệ số hấp thụ mol (ϵ), và hằng số bền được xác định qua phương pháp biến đổi liên tục (Job's method) [10].

2.3.2. Khảo sát khả năng kháng khuẩn

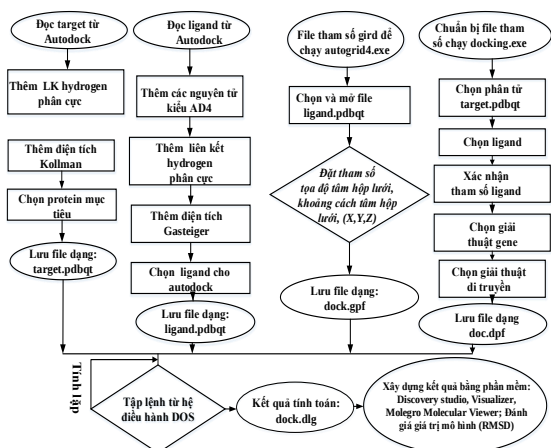
Đánh giá khả năng kháng khuẩn của Ti(PLB)₂ đối với vi khuẩn gram dương *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235) và gram âm *Escherichia coli* (ATCC 11229) sử dụng phương pháp khuếch tán đĩa thạch trên môi trường Muller Hinton Agar (MHA) [11].

2.3.3. Xác định hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Phương pháp thực hiện trên đĩa 96 giếng [12], với mẫu thử được pha loãng bằng DMSO 100% và nồng độ cuối từ 500 đến 4 μ g/mL. Đo độ hấp thụ quang (OD) ở bước sóng 405 nm bằng máy đo ELISA Plate Reader, sử dụng acarbose làm chất tham khảo. Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của mẫu thử được xác định bằng công thức: Độ ức chế (%) = $100 - [(OD_{\text{mẫu thử}} / OD_{\text{đối chứng}}) \times 100]$.

2.3.4. Nghiên cứu hoạt tính sinh học trong silico docking

Việc docking phân tử của phức Ti(PLB)₂ với enzyme 3TOP được thực hiện để dự đoán hoạt tính sinh học của phức chất này trong nghiên cứu phát triển thuốc chống đái tháo đường loại 2. Quá trình này dựa trên khả năng ức chế enzyme 3TOP, với cấu trúc được lấy từ cơ sở dữ liệu protein PDB (<https://www.rcsb.org/structure/3TOP>). Docking phức hữu cơ kim loại như Ti(PLB)₂ đặc biệt phức tạp và yêu cầu thay đổi so với quy trình chuẩn, theo sơ đồ được minh họa trong Hình 1. Để thực hiện docking, cần chuẩn bị các file dữ liệu liên quan đến ion kim loại như AD4.1_bound.dat, AD4.1_compact.dat, AD4.1_extended.dat, và AD4_parameters.dat. Trong quá trình này, file cấu trúc enzyme 3TOP.pdb cần được tinh chỉnh bằng cách loại bỏ nước và các dị vòng, và sau đó kiểm tra tính hợp lệ của cấu trúc enzyme thông qua phần mềm Swiss PDB viewer.



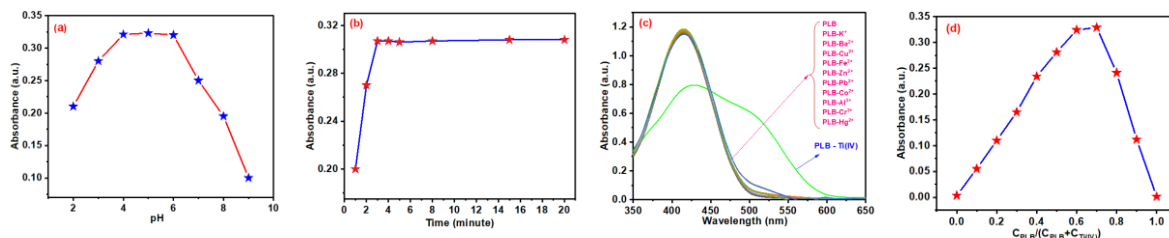
Hình 1. Sơ đồ docking chung của một ligand đến enzyme đích để dự báo hoạt tính sinh học của phức $Ti(PLB)_2$

Mô hình này được dự báo đặc tính hóa lý và được động học như thuốc dựa trên nền tảng web được thực hiện một cách đầy đủ các đặc tính như thuốc của phức $Ti(PLB)_2$: hấp thu thuốc, phân bố thuốc, trao đổi thuốc, đào thải thuốc và độc tố thuốc [13-14].

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Nghiên cứu sự tạo phức của PLB với $Ti(IV)$ trong dung dịch

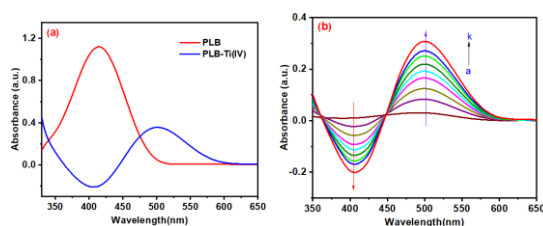
Trong môi trường acid, PLB có đỉnh hấp thụ cực đại (UV-vis) ở 268 nm, cường độ mạnh tương ứng



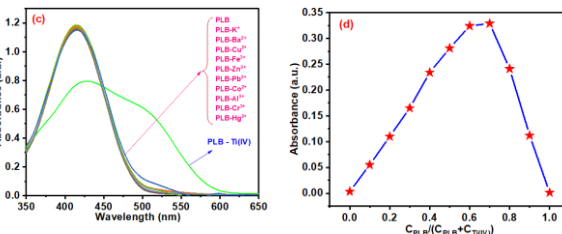
Hình 3. (a) Ảnh hưởng của pH; (b) Độ bền của phức theo thời gian. (c) Ảnh hưởng của một số kim loại; (d) Thành phần phức theo phương pháp Job

Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành phức như: pH, ảnh hưởng của ion lạ, thời gian, ... cũng được khảo sát. Kết quả nghiên cứu chỉ ra ở hình 3a cho thấy giá trị pH tối ưu nằm trong khoảng từ 4,0 đến 6,0, do khoảng pH tối ưu khá rộng nên chúng tôi không cần sử dụng đệm trong các nghiên cứu tiếp theo và quyết định thực hiện các thí nghiệm trong môi trường có pH = 5; phức sẽ hình thành sau 3 phút và ổn định trong vòng 20 phút (hình 3b), các thí nghiệm tiếp theo sẽ được tiến hành trong

với các chuyển tiếp điện tử benzenoid và quinonoid, và ở 418 nm có cường độ thấp, thể hiện chuyển tiếp cục bộ có thể là chuyển tiếp $n \rightarrow \pi^*$ [9, 15]. Khi $Ti(IV)$ được thêm vào dung dịch PLB trong môi trường acid, cường độ ở đỉnh 418 giảm và dịch chuyển gần đến 500 nm (hình 2a) điều này chỉ ra sự biến đổi của hệ thống liên kết $n \rightarrow \pi^*$ [15]. Dung dịch chuyển từ màu vàng nhạt sang màu đỏ hồng. Các kết quả này phù hợp với kết quả của nghiên cứu huỳnh quang trước đây. Đây là dấu hiệu mà nghiên cứu này dùng để thăm dò cho các nghiên cứu về sau. Tín hiệu khi tăng nồng độ $Ti(IV)$ thì có cường độ peak tại 500 nm tăng (hình 2b) là cơ sở để nghiên cứu khả năng ứng dụng của phức vào phân tích.



Hình 2. (a) Phổ UV vis của dung dịch PLB, $Ti(PLB)_2$ trong môi trường acid; (b) Phổ UV vis $Ti(PLB)_2$ khi nồng độ phức tăng dần $0.1 \times 10^{-5} M - 0.9 \times 10^{-5} M$ (dung dịch so sánh là PLB).



khoảng thời gian 5 phút sau khi pha hỗn hợp gồm PLB và $Ti(IV)$; kết quả khảo sát cho thấy các ion kim loại không ảnh hưởng đến phức trong điều kiện thí nghiệm (hình 3c) điều này góp phần cho việc nghiên cứu phân tích $Ti(IV)$ trong dung dịch một cách chọn lọc.

Dựa vào hình 3d ta tính được tỷ lệ $(C_{PLB})/(C_{Ti} + C_{PLB}) = 0,67$ và $(C_{Ti})/(C_{Ti} + C_{PLB}) = 0,33$, suy ra $(C_{Ti})/C_{PLB} = 1/2$. Kết quả này cho thấy rằng phức có dạng $Ti(PLB)_2$. Điều này hoàn toàn

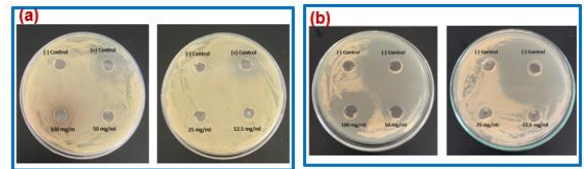
phù hợp với các tính toán mô phỏng, thực nghiệm ở phổ huỳnh quang và đặc biệt phổ ESI MS. Đồ thị tuyến tính của nồng độ Ti(IV) và độ hấp thụ quang (A) tại bước sóng 500 nm có phương trình: $A = 0,318 \times 10^{-5} C (\text{mol/L}) + 0,026$ ($R^2 = 0,9962$). Trên cơ sở các kết quả thực nghiệm, tính được hệ số hấp thụ mol là $\epsilon = 5,47 \times 10^5$ và hằng số cân bằng $K = 8,6 \times 10^4$.

So sánh với các thuốc thử đã được nghiên cứu như phức Ti(IV) với PAR hoặc PAN; MTX - Ti(IV) - H_2O_2 , 3,4-dihydroxybenzoic acid, TAC thì phức của Ti(PLB)₂ có khả năng tương tự thuốc thử PAR, PAN, TAC nhưng không nhạy bằng phản ứng của MTX - Ti(IV) - H_2O_2 [16- 17]. Do đó nếu nghiên cứu áp dụng phức Ti(PLB)₂ vào phân tích định lượng bằng UV-vis hy vọng đây sẽ là phương pháp đơn giản, chi phí thấp, có tính chọn lọc và độ nhạy cao.

3.2. Khả năng kháng khuẩn

Trước tiên, vi khuẩn ở mật độ 10^5 CFU/mL được cấy trải trên đĩa thạch, sau đó sử dụng dụng cụ chuyên dụng để tạo giếng có đường kính 6 mm. Phức Ti(PLB)₂ được pha thành các nồng độ 12.5,

25, 50, 100 mg/mL trong DMSO và 100 μL của mỗi nồng độ được đưa vào từng giếng. Đối chứng dương được sử dụng là penicillin cho *S. aureus* và gentamycin cho *E. coli*, trong khi đối chứng âm là DMSO. Ủ đĩa ở 37°C trong 18-24 giờ. Sử dụng thước đo tiêu chuẩn để đo đường kính vòng kháng khuẩn.



Hình 4. (a)Ti(PLB)₂ không ức chế sự phát triển của *E. coli*; (b)Ti(PLB)₂ có khả năng ức chế sự phát triển của *S. aureus*

Kết quả cho thấy phức Ti(PLB)₂ có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn *S. aureus*, với kích thước vòng kháng khuẩn đạt 16 mm khi sử dụng ở nồng độ 100 mg/mL (hình 4b). các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng PLB có khả năng ức chế sự phát triển của *S. aureus* bao gồm cả các chủng kháng thuốc và *E. coli* [18-19].

3.3. Khả năng ức chế Enzyme alpha-glucosidase

Bảng 1. Tác động ức chế alpha-glucosidase của mẫu nghiên cứu

Nồng độ (μM)	PLB-Ti		Acarbose	
	TB	SD	TB	SD
500	98,01	1,64	77,02	1,21
100	83,81	1,55	50,92	1,22
20	17,98	1,34	18,03	0,59
4	2,35	0,16	7,85	0,56
IC₅₀	48,47 $\pm$ 1,94		121,50 $\pm$ 4,88	

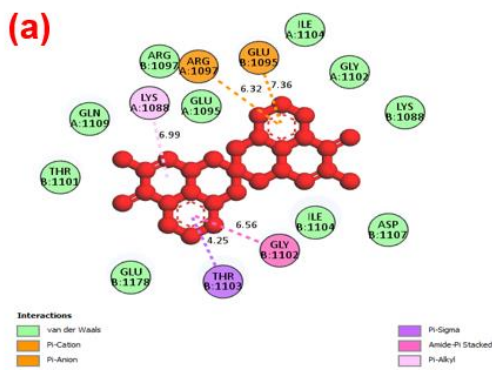
Kết quả ở bảng 1 cho thấy, phức chất Ti(PLB)₂ có hiệu quả ức chế enzyme α -glucosidase đáng kể, đặc biệt là ở nồng độ cao. Tại nồng độ 500 μM , Ti(PLB)₂ ức chế được 98,01% hoạt động của enzyme, cao hơn so với Acarbose, một chất ức chế tiêu chuẩn, chỉ ức chế được 77,02%. Tại các nồng độ thấp hơn, Ti(PLB)₂ vẫn cho thấy khả năng ức chế tốt hơn Acarbose, chẳng hạn ở nồng độ 100 μM , Ti(PLB)₂ ức chế 83,81% so với 50,92% của Acarbose. Ti(PLB)₂ có giá trị IC₅₀ là 48,47 μM , thấp hơn nhiều so với Acarbose (121.50 μM). Điều này chỉ ra rằng Ti(PLB)₂ có khả năng ức chế mạnh mẽ hơn Acarbose đối với enzyme α -glucosidase.

3.4. Nghiên cứu hoạt tính sinh học trong silico docking

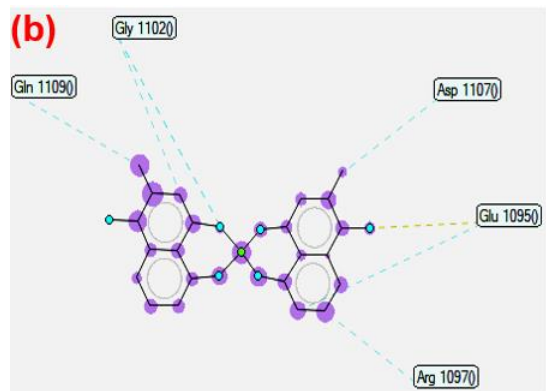
In silico docking

Pose 159 là dạng bền nhất của phức Ti(PLB)₂ sau khi được so sánh với 500 dạng của ligand thông qua quá trình docking với enzyme 3TOP: BDP. Quá trình này nhằm dự báo khả năng tương tác của phức Ti(PLB)₂ với enzyme α -glucosidase. Khả năng ức chế hiệu quả enzyme này bởi phức Ti(PLB)₂ cho thấy tiềm năng của nó trong việc làm chậm quá trình phân hủy đường, từ đó có thể phát triển thành thuốc điều trị bệnh tiểu đường tuýp 2.

Về mặt nhiệt động học, pose 159 đã gắn kết vào khoang hoạt tính của enzyme với giá trị năng lượng tự do Gibbs, $\Delta G^{\circ} = -7.66 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ và một hằng số ức chế, $K_i = 2.43 \text{ }\mu\text{M}$ và chứng minh rằng phản ứng là xảy ra. Tương tác giữa pose 159 và tâm hoạt tính trên enzyme được trình bày trong hình 5a. Các tương tác của pose 159 với enzyme được chia thành 3 phần: phần nhận diện protein có các tương tác pi-cation và pi-anion được hình thành từ Arg 1097 của chuỗi A và Glu 1095 của chuỗi B đến hệ thống điện tử pi của vòng phenyl; tương tác amide pi- stacked từ Gly 1102 và liên kết pi-sigma từ Thr 1103 của chuỗi B đến hệ thống điện tử pi của vòng thơm; phần linker (dây) gồm tương tác pi-alkyl từ



Lys 1088 của chuỗi A đến hệ thống điện tử pi của vòng quinone liên hợp trên cấu trúc của phức. Tất cả các tương tác này thuộc về tương tác yếu và là tương tác kỵ lỏng (hydrophilic interactions); Phần nhóm chức của pose không có sự hình thành liên kết hydrogen từ pose 159 đến các phần tử hoạt tính trên 3TOP, liên kết H-bond này đóng vai trò quan trọng trong tương tác thuốc, khả năng hòa tan trong nước hoặc dung môi phân cực và dẫn đến kết luận chung trong mô hình tương tác ligand, pose 159 không ức chế tốt enzyme 3TOP và mặt tương tác và không phát triển thuốc kháng tiểu đường trên cơ sở phức phức Ti(PLB)_2 [20-22].



Hình 5. (a) Tương tác giữa cấu dạng tối ưu của phức Ti(PLB)_2 , pose 159/500 và enzyme 3TOP: PDB trên một sơ đồ 2 chiều; (b) Bản đồ ligand trình bày các tương tác thứ cấp giữa 3TOP và pose 159

Mô hình dược động học như thuốc ADMET

Thông số hóa lý của phức được trình bày trong bảng 1, cho thấy các thông số đều trong phạm vi cho phép, chỉ có giá trị LogP vượt ra ngoài phạm vi, giá trị cao cho thấy phức này có hệ số phân bố trong nước nhỏ hơn trong pha dầu, giá trị log S âm

cho thấy độ hòa tan trong nước của phức thấp. Các thông số dược học, sự hấp thu, khả năng phân bố, trao đổi chất, sự đào thải thuốc, độ tổ thuốc và độc tố môi trường đã được tính toán tuy nhiên trong khuôn khổ bài báo không thể trình bày hết các thông số này.

Bảng 2. Thông số hóa lý của phức Ti(PLB)_2

Tính chất	Giá trị	Giá trị tối ưu
Mol phân tử	422.03	100-600
Thể tích	358.180	Thể tích Van der Waals
Tỷ trọng	1.178	Tỷ trọng = Mol phân tử : Thể tích
Số lượng chất nhận liên kết hydrogen	6	Số lượng chất nhận liên kết hydro: 0-12
Số lượng chất cho liên kết hydro	0	. 0-7
Số lượng liên kết quay	0	0-11
Số nguyên tử trong vòng lớn nhất.	12	0-18
Số nguyên tử dị vòng	7	1-15
Điện tích hình thức	2	-4 - 4

Tính chất	Giá trị	Giá trị tối ưu
Số lượng liên kết cứng	32	0-30
Tính linh hoạt	0	Tính linh hoạt = Số lượng liên kết quay: Số lượng liên kết cứng
Số tâm lập thể	0	2
Diện tích bề mặt phân cực tổng.	75,2	0-140
logS	-5,941	Log S. Tối ưu: -4- 0,5 log mol/L
logP	4,073	LogP octanol/nước. Tối ưu: 0-3
logD	2,543	logD ở pH sinh lý 7,4. Tối ưu: 1-3

Thông số dược học cho thấy thuốc đáp ứng luật Lipinski, Pfizer, và Goden Triange. Thông số hấp thụ thuốc cho thấy đáp ứng hoàn toàn, trong khi chỉ số P-gp là 1, chỉ ra rằng thuốc có khả năng ức chế glycoprotein. Các thông số phân phối thuốc cho thấy giá trị PPB (plasma protein binding) 96.6% lớn hơn giá trị tối ưu (< 90%) cho thấy chỉ mục điều trị thấp của thuốc. Các chỉ số trao đổi chất của thuốc cho thấy thuốc có khả năng ức chế các enzyme hoặc cơ chất CYP 1A2, 2C19, 2C9, 2D6, 3A4 mà các phản ứng này xảy ra trong gan người. Các thông số độc tố thuốc cho thấy giá trị AMES cần được quan tâm. Thông số độc tố môi trường hoàn toàn đáp ứng. Kết quả mô phỏng tính toán cũng cho thấy phức Ti(PLB)₂ có khả năng ức chế tốt enzyme α -glucosidase nhưng không cao.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu phức chất PLB với Ti(IV) trong dung dịch sử dụng phương pháp UV-vis đã đưa ra các kết quả đáng chú ý. Phức Ti(PLB)₂ có bước sóng hấp thụ cực đại tại 500 nm, tỷ lệ của phức là 1:2, hệ số hấp thụ mol là $\epsilon = 5.47 \times 10^5$ và hằng số cân bằng $K = 8.6 \times 10^4$. Trong môi trường acid, phức này có tính chọn lọc cao. Ngoài ra, Ti(PLB)₂ còn có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn *S. aureus*. Kết quả nghiên cứu *in vitro* cho thấy Phức chất Ti(PLB)₂ có giá trị IC₅₀ là 48.47 μ M, thấp hơn nhiều so với Acarbose (121.50 μ M) với kết quả này phức Ti(PLB)₂ là một hợp chất đầy hứa hẹn cho việc phát triển thuốc trong điều trị bệnh tiểu đường nhờ vào hiệu quả ức chế enzyme α -glucosidase của nó.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm Khoa Công nghệ Hóa học -trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh và Trung tâm phân tích và thực nghiệm thành phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Krishnaswamy and K. K. Purushothaman, (1980). Plumbagin: a study of its anticancer, antibacterial and antifungal properties. *Indian journal of experimental biology*, **18(8)**, 876-877.
- [2] H. H. Guan, Y. H. Huang, E. S. Lin, C. J. Chen, and C. Y. Huang, (2021). Plumbagin, a natural product with potent anticancer activities, binds to and inhibits dihydroorotase, a key enzyme in pyrimidine biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, **22(13)**, 6861.
- [3] P. Luo *et al.*, (2010). Anti-inflammatory and analgesic effect of plumbagin through inhibition of nuclear factor- κ B activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **335(3)**, 735-742.
- [4] Y. Shao, M. Dang, Y. Lin, and F. Xue, (2019). Evaluation of wound healing activity of plumbagin in diabetic rats. *Life sciences*, **231**, 116422.
- [5] S. K. Tripathi, M. Panda, and B. K. Biswal, (2019). Emerging role of plumbagin: cytotoxic potential and pharmaceutical relevance towards cancer therapy. *Food and Chemical Toxicology*, **125**, 566-582.
- [6] F. Berglund and B. Carlmark, (2011). Titanium, sinusitis, and the yellow nail syndrome. *Biol Trace Elem Res*, **143(1)**, 1-7.
- [7] F. Haghighat, Y. Kim, I. Sourinejad, I. J. Yu, and S. A. Johari, (2021). Titanium dioxide nanoparticles affect the toxicity of silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, **262**, 127805.
- [8] E. Y. Tshuva and M. Miller, (2018). Coordination complexes of titanium(IV) for

anticancer therapy. *Metal Ions in Life Sciences*, **18**, 219-250.

[9] N. Van Thoi, T. N. M. An, N. Q. Hung, P. Van Tat, and L. Van Tan, (2023). The spectroscopic properties and capability of a new and selective complex of Ti-Plumbagin for analyzing titanium in sand samples. *Microchemical Journal*, **194**, 109221.

[10] Z. D. Hill and P. Maccarthyl, (1968). Novel Approach to Job's Method An Undergraduate Experiment. *Journal of Chemical Education*, **63(2)**, 162-167.

[11] J. D. Uwizeyimana, D. Kim, H. Lee, J. H. Byun, and D. Yong, (2020). Determination of colistin resistance by simple disk diffusion test using modified Mueller-Hinton agar. *Ann Lab Med*, **40(4)**, 306-312.

[12] S. Kumar, S. Narwal, V. Kumar, and O. Prakash, (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, **5(9)**, 19-29.

[13] G. Xiong *et al.*, (2021). ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res*, **49(W1)**, W5-W14.

[14] Y. Wang *et al.*, (2015). In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Quarterly Reviews of Biophysics*, **48(4)**, 488-515.

[15] I. Singh, R T Ogata, R. E. Moore, C. W. J. Chang, and P. J. Scheuer, (1986). Electronic spectra of substituted naphthoquinones. *Pergamon Press*, **24(18)**, 6053-6073.

[16] Y. Komazaki, T. Inoue, and S. Tanaka, (2001). Automated measurement system for H₂O₂

in the atmosphere by diffusion scrubber sampling and HPLC analysis of Ti(IV)-PAR-H₂O₂ complex. *Analyst*, **126(5)**, 587-593.

[17] K. Takamura and T. Matsumoto, (2020). UV-visible spectral analysis for the characterization of the titanium(iv)-4-(2-pyridylazo) resorcinol complex as a reagent for determining hydrogen peroxide. *Dalton Transactions*, **49(3)**, 690-696.

[18] Sweatha V. Nair *et al.*, (2016). Antimicrobial activity of plumbagin, a naturally occurring naphthoquinone from *Plumbago rosea*, against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *International Journal of Medical Microbiology*, **316(4)**, 237-248.

[19] D. M. I. H. Dissanayake *et al.*, (2022). Antimicrobial activity of *Plumbago indica* and ligand screening of plumbagin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **40(7)**, 3273-3284.

[20] N. H. Nguyen, N. M. A. Tran, T. H. Duong, and G. Van Vo, (2023). α -Glucosidase inhibitory activities of flavonoid derivatives isolated from *Bouea macrophylla*: in vitro and in silico studies. *RSC Adv*, **13(12)**, 8190-8201.

[21] G. Van Vo *et al.*, (2022). In silico and in vitro studies on the anti-cancer activity of artemetin, vitexicarpin and penduletin compounds from *Vitex negundo*. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **30(9)**, 1301-1314.

[22] H. T. Nguyen *et al.*, (2022). α -Glucosidase Inhibitory and Antimicrobial Benzoylphloroglucinols from *Garcinia schomburgakiana* Fruits: In Vitro and In Silico Studies. *Molecules*, **27(8)**, 82574.