Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên
Tập 133, Số 1C, 21–37, 2024

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

# NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG ỨC CHẾ VI KHUẨN GÂY BỆNH VIÊM ĐƯỜNG HÔ HẤP VÀ VÒM HỌNG CỦA CÁC HOẠT CHẤT TÁCH CHIẾT TỪ CÂY KINH GIỚI (*Elsholatzia cillata*) BẰNG THỰC NGHIỆM VÀ MÔ PHỎNG

**Nguyễn Vĩnh Phú[1], Võ Hoàng Bách[2], Hoàng Thị Phương Nga[2], Trần Quang Huy[3], Nguyễn Đại Châu[3], Nguyễn Thị Ái Nhung[3], Phan Tứ Quý[4], Nguyễn Thị Thanh Hải[3]***

[1] Khoa Cơ bản, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, Huế, Việt Nam
[2] Trường Trung học Phổ thông Chuyên Quốc học Huế, Huế, Việt Nam
[3] Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, Huế, Việt Nam
[4] Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Tây Nguyên, Buôn Ma Thuột, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Nguyễn Thị Thanh Hải <nguyenthanhhai@hueuni.edu.vn>
(*Ngày nhận bài: 13-03-2024; Hoàn thành phản biện: 29-05-2024; Ngày chấp nhận đăng: 07-06-2024*)

**Tóm tắt.** Tinh dầu lá cây Kinh giới (*Elsholatzia cillata*) được chiết xuất và xác định được 13 hợp chất (**E1 - E13**) bằng phương pháp GC-MS. Nghiên cứu khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh viêm đường hô hấp (*Streptococcus pneumoniae* với protein 5XU1) và vi khuẩn vòm họng (*Strepcococcus pyogene* với protein 4XCH) của các hợp chất chất trong điều kiện phòng thí nghiệm (*in vitro*) và mô phỏng docking phân tử (*in silico*). Đánh giá khả năng kháng khuẩn của tinh dầu Kinh giới trong điều kiện *in vitro* đối với vi khuẩn gây bệnh hô hấp (*S. pneumoniae*) và vi khuẩn vòm họng (*S. pyogenes*) cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) lần lượt là 45 mm; 0,15625 $\mu L.mL^{-1}$ trên chủng *S.pneumoniae* và 34 mm; 0,15625 $\mu L.mL^{-1}$ trên chủng *S. pyogenes*. Mô phỏng docking phân tử khẳng định các hợp chất **E12**, **E9**, **E5**, **E11**, **E8** ức chế tốt protein 5XU1 và các hợp chất **E8**, **E11**, **E9**, **E10**, **E12** ức chế tốt protein 4XCH.

**Từ khoá:** *Elsholatzia cillata, Streptococcus pneumoniae, Strepcococcus pyogene, in vitro, in silico*

# *In vitro* and *in silico* studies of compounds extracted from *Elsholatzia cillata* against bacteria *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*

**Nguyen Vinh Phu[1], Vo Hoang Bach[2], Hoang Thi Phuong Nga[2], Tran Quang Huy[3], Nguyen Dai Chau[3], Nguyen Thi Ai Nhung[3], Phan Tu Quy[4], Nguyen Thi Thanh Hai[3]***

[1] Faculty of Basic Sciences, University of Medicine and Pharmacy, Hue University, Hue, Vietnam
[2] Quoc Hoc – Hue High School for the Gifted, Hue, Vietnam
[3] Department of Chemistry, University of Sciences, Hue University, Hue, Vietnam
[4] Department of Natural Sciences & Technology, Tay Nguyen University, Buon Ma Thuot, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Thi Thanh Hai <nguyenthanhhai@hueuni.edu.vn>
(*Received: 13 March 2024; Revised: 29 May 2024; Accepted: 07 June 2024*)

Accepted paper

**Abstract.** The *Elsholatzia cillata* essential oil was extracted and characterized by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for compositional specificity. GC-MS analysis revealed the presence of 13 natural components in the essential oil (**E1 - E13**). The ability of active components that inhibit *Streptococcus pneumoniae* with 5XU1 protein and *Strepcococcus pyogene* with 4XCH protein was identified using *in vitro* and *in silico* studies. Evaluating the antibacterial ability of compounds in the *Elsholatzia cillata* essential oil under *in vitro* conditions that against *S. pneumoniae* and *S. pyogenes* exhibited that the results of inhibition zone diameter and minimum concentration inhibition (MIC) was 45 mm and 0.15625 μL.mL$^{-1}$ on *S.pneumoniae* strain and 34 mm and 0.15625 μL.mL$^{-1}$ on *S. pyogenes* strain, respectively. Molecular docking simulations confirmed the most effective inhibitors against proteins 5XU1 and 4XCH into the order of ligand-protein complexes **E12**, **E9**, **E5**, **E11**, **E8** and **E8**, **E11**, **E9**, **E10**, **E12**.

**Keywords:** *Elsholatzia cillata, Streptococcus pneumoniae, Strepcococcus pyogene, in vitro, in silico*

## 1 Mở đầu

Những năm gần đây, trên thế giới xuất hiện nhiều dịch bệnh liên quan đến đường hô hấp do tình hình biến đổi khí hậu và ô nhiễm môi trường ngày càng nghiêm trọng. Các dịch bệnh này chủ yếu do các loại vi rút, vi khuẩn gây ra. Điển hình như bệnh cúm mùa (do vi rút cúm Influenza) xuất hiện lần đầu tiên ở châu Âu, châu Mỹ và các khu vực châu Á vào năm 1918. Dịch cúm H5N1 (do vi rút cúm A/H5N1) lần đầu tiên được phát hiện và gây ra trận đại dịch cúm trên toàn cầu vào năm 1997 [1,2]. Gần đây nhất là từ năm 2019, đại dịch Covid–19 đã ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người, làm suy yếu hệ miễn dịch và gây tử vong cho hàng chục triệu người trên toàn thế giới và hiện nay dịch bệnh do virut SARS-CoV-2 gây ra này vẫn là một thách thức đối với toàn nhân loại do sự xuất hiện của nhiều biến chủng phức tạp [3,4].

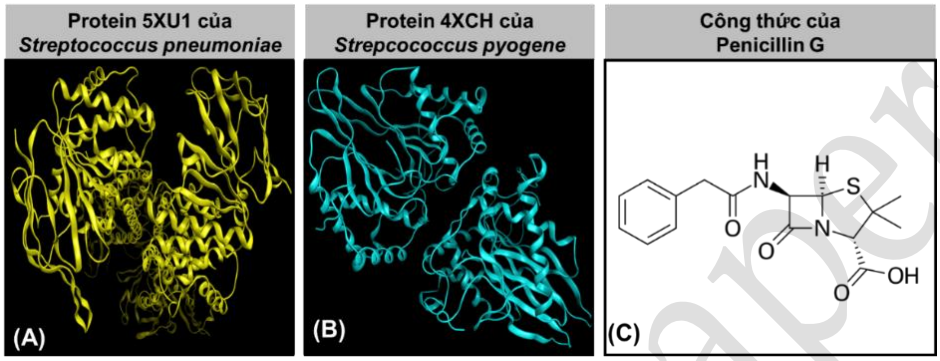
Cho đến nay, các nhà khoa học vẫn chưa tìm ra các thuốc đặc trị cho các bệnh về nhiễm khuẩn đường hô hấp, ngoại trừ bệnh cúm mùa [5,6]. Việc điều trị các bệnh này chủ yếu là điều trị triệu chứng, nâng cao thể trạng cho bệnh nhân. Sử dụng các loại thuốc đặc trị hay vacxin phòng bệnh đều có thể mang đến những tác dụng không mong muốn ảnh hưởng đến sức khỏe của người dùng [7,8]. Đáng chú ý, hiện tượng kháng thuốc phổ biến như hiện nay đã và đang trở thành vấn đề hết sức nan giải cho các nhà điều trị lâm sàng và nhà nghiên cứu trong công cuộc tìm ra các loại thuốc mới, đặc biệt là thuốc có nguồn gốc tự nhiên [9]. Theo Y học Cổ truyền, đã từ lâu, người dân đã biết sử dụng các thảo dược có chứa tinh dầu như Tỏi, Gừng, Tiêu, Chanh, Sả, … để sát khuẩn đường hô hấp và điều trị các bệnh cảm cúm [10]. Các thảo dược này có tính hiệu quả và an toàn hơn so với các thuốc có nguồn gốc hóa dược. Ngoài ra, các thảo dược thường dễ kiếm, sẵn có, dễ sử dụng, dễ bào chế mang tính ưu việt nên rất cần thiết cho việc phòng chống các bệnh về đường hô hấp. Tinh dầu có trong thực vật là một thành phần do thiên nhiên ban tặng, một nhóm hợp chất có giá trị kinh tế cao, bên cạnh ứng dụng trong hương liệu, mỹ phẩm, nước hoa thì tinh dầu còn được dùng trong dược phẩm, các sản phẩm hỗ trợ sức khỏe để dùng trong hỗ trợ và điều trị bệnh [11]. Tinh dầu Kinh giới *(Elsholatzia cillata)* được chiết xuất từ lá của cây Kinh giới với thành phần tinh dầu rất giàu monoterpene và sesquiterpene [12], đặc biệt là carvacrol và các cấu tử khác có các hoạt tính sinh học chống oxy hóa và kháng khuẩn [13,14]. Nghiên cứu cho thấy rằng tinh dầu Kinh giới có nhiều tiềm năng dược lý như chống oxy hóa và kháng khuẩn rất tốt [15].

Chúng tôi tiến hành tách chiết tinh dầu từ lá cây Kinh giới *(Elsholatzia cillata)* và xác định thành phần hóa học của tinh dầu tách chiết được. Sau đó, nghiên cứu khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh hô hấp *Streptococcus pneumoniae* với

Accepted paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

protein 5XU1 (PDB: https://doi.org/10.2210/pdb5XU1/pdb) (Hình 1A) và vi khuẩn gây bệnh vòm họng *Strepcococcus pyogene* với protein 4XCH (PDB: https://doi.org/10.2210/pdb4XCH/pdb) (Hình 1B). trong điều kiện phòng thí nghiệm (*in vitro*) và bằng phương pháp mô phỏng docking phân tử (*in silico*) và thuốc Penicillin G được chọn làm thuốc đối chứng (Hình 1C) trong nghiên cứu này.




**Hình 1.** (A) Protein 5XU1 của vi khuẩn gây bệnh hô hấp (*Streptococcus pneumoniae*); (B) Protein 4XCH của vi khuẩn gây bệnh vòm họng *(Strepcococcus pyogene)*; (C) Thuốc đối chứng Penicillin (D)

## 2 Thực nghiệm

### 2.1 Nguyên liệu và hóa chất

**Nguyên liệu**

Lá cây Kinh giới được thu hái ở huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 03/2022. Mẫu được định danh bằng cách so sánh với mô tả từ tài liệu tham khảo bởi KS. Nguyễn Đại Châu, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế và được lưu trữ tại Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, với ký hiệu mẫu KG-03/2022. Lá tươi và trưởng thành của cây được rửa sạch, để ráo, sau đó xay thô dùng để chiết xuất tinh dầu. Việc chiết xuất được tiến hành ngay sau khi xay lá tươi để hạn chế mất tinh dầu.

Vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 và vi khuẩn *Streptococcus pyogenes* ATCC 12344 được cung cấp bởi Bộ môn Vi sinh – Ký sinh, Khoa Dược Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

**Hóa chất và dụng cụ, thiết bị**

Dụng cụ: Cân phân tích; Ethanol kế; Tủ sấy; Bếp cách thủy; Máy khuấy từ; Máy xay; Cốc becher loại 100 mL và 300 mL; Bình đong loại 100 mL; Đĩa petri và một số dụng cụ thường quy ở phòng thí nghiệm.

Hóa chất: Nước cất, Tween 80, Penicillin G, Natrisulfat khan.

**Hình 2.** Lá cây Kinh giới được thu hái tại huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 3/2022

Accepted Paper

### 2.2 Tách chiết tinh dầu từ lá cây Kinh giới

Tinh dầu từ lá cây Kinh giới sẽ được tách chiết bằng phương pháp chưng cất hơi nước. 30 kg nguyên liệu đã xay thô đến kích thước 0,5 – 1 cm được cho vào nồi chưng cất tinh dầu với dung tích 50 L. Tinh dầu thô sau khi được chiết tách sẽ được loại nước triệt để bằng Natrisulfat khan để thu được 70 mL tinh dầu tinh khiết.

### 2.3 Xác định thành phần hóa học của tinh dầu Kinh giới

Tinh dầu xác định thành phần hợp chất bằng phương pháp sắc ký ghép nối phối phổ (GC–MS) thông qua thiết bị sắc ký ghép khối phổ (Agilent GC 7890B–MS 5975C) với cột sắc ký HP–5MS (30 m × 250 μm × 0,25 μm). Các hợp chất trong tinh dầu lá cây Kinh giới được xác định cấu trúc bằng cách so sánh với cơ sở dữ liệu NIST14.

### 2.4 Phương pháp đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn của tinh dầu Kinh giới bằng thực nghiệm *in vitro*

**Chuẩn bị vi khuẩn thử nghiệm**

Các chủng vi khuẩn chuẩn sau khi cấy hoạt hóa trên đĩa thạch NA bổ sung 5% máu cừu được ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Vi khuẩn được pha trong dung dịch nước muối sinh lý bổ sung 0.05% Tween 80 và phân tán đều bằng máy vortex. Huyền dịch vi khuẩn được điều chỉnh về giá trị OD 0,08-0,12 tại bước sóng 625 nm. Giá trị này tương đương với khoảng 1-2 x $10^8$ CFU.mL$^{-1}$. Vi khuẩn sau khi pha xong phải sử dụng trong vòng 30 phút. Sau đó, huyền dịch trên tiếp tục được pha loãng 10 lần để đạt mật độ vi khuẩn tương ứng với $10^7$ CFU.mL$^{-1}$.

**Môi trường**

Môi trường tốt nhất để thực hiện phương pháp pha loãng môi trường thạch xác định MIC là MHA (Mueller-Hinton Agar) bổ sung 5 % máu cừu. Tinh dầu thử nghiệm được hút chính xác và pha thành dung dịch mẹ trong Tween 80, 0,05 %. Chuẩn bị sẵn 1 dãy gồm 12 đĩa petri Φ 60 mm vô trùng và đánh số từ 1 đến 11 ở đáy đĩa; đĩa số 12 được ký hiệu là đĩa chứng và thay tinh dầu thử nghiệm bằng Tween 80 0,05 %. Tiến hành pha loãng trong môi trường thử nghiệm sao cho tạo thành dãy có nồng độ sau bằng 1/2 nồng độ trước. Nồng độ cuối của tinh dầu trong đĩa môi trường của dãy thử nghiệm như sau: 40 μl.mL$^{-1}$, 20 μl.mL$^{-1}$, 10 μl.mL$^{-1}$, 5 μl.mL$^{-1}$, 2,5 μl.mL$^{-1}$, 1,25 μl.mL$^{-1}$, 0,6125 μl.mL$^{-1}$, …, 0,039 μl.mL$^{-1}$. Sử dụng máy vortex để đảm bảo trộn đều chất thử trong môi trường. Đổ vào đĩa petri và chờ thạch đông.

**Tiến hành khảo sát**

Chấm 1 μL dịch vi khuẩn lên đĩa để đạt được mật độ vi khuẩn trên đĩa thạch là $10^4$ CFU.mL$^{-1}$. Các đĩa thạch được để ngửa để dịch cấy trên các điểm cấy thấm hoàn toàn lên mặt thạch khoảng 10 – 15 phút. Ủ ở nhiệt độ 35 – 37 °C. Thử nghiệm được lặp lại 6 lần. Đọc kết quả sau 18 – 24 giờ. Tìm đĩa có nồng độ thấp nhất ức chế hoàn toàn sự tạo khóm, nồng độ của đĩa thạch này là MIC của chất thử đối với vi khuẩn thử nghiệm. Nếu có vi khuẩn mọc ở nồng độ cao hơn và bị ức chế ở nồng độ thấp hơn, mẫu cấy có thể do bị nhiễm và thử nghiệm phải được thực hiện lại.

### 2.5 Phương pháp đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn của tinh dầu Kinh giới bằng mô phỏng docking phân tử

Sử dụng phương pháp docking phân tử để dự đoán năng lượng lắp ghép và tương tác giữa hợp chất (ligand) với enzyme/protein của virus, vi khuẩn từ đó đề nghị cơ chế ức chế virus, vi khuẩn của nghiên cứu. Các bước tiến hành mô hình hóa lắp ghép phân tử gồm 5 bước thông qua phần mềm MOE 2015.10 [16–19].

Accepted Paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

***Bước 1. Lựa chọn và chuẩn bị cấu trúc mục tiêu tác động***

- Lựa chọn protein.

- Xác định vị trí gắn kết thông qua vùng tác động của protein, được xác định dựa trên vị trí ligand (bán kính 4,5 Å) và sự hiện diện các amino acid quan trọng của protein. Các phân tử nước được loại bỏ và cấu dạng các amino acid được kiểm tra trước khi tái lập vùng tác động của protein.

***Bước 2. Chuẩn bị cấu trúc phân tử hợp chất (ligand)***

- Xây dựng cấu trúc 2D (cấu trúc phẳng) của các phân tử hợp chất được vẽ chuyển đổi tự động sang cấu trúc hóa học 3D (cấu trúc không gian ba chiều) bằng phần mềm ChemBioOffice 2018.

- Tối ưu hóa năng lượng cấu trúc phân tử 3D của hợp chất nghiên cứu bằng phần mềm SYBYL-X 1.1 để thiết lập lại cấu dạng của chất nghiên cứu, sử dụng phương pháp Conj Grad (gradient liên hợp), lựa chọn điểm dừng là thay đổi năng lượng nhỏ hơn 0,001 kcal.mol$^{-1}$, điện tích từng phần Gasteiger – Huckel, số bước lặp lại tối đa 10.000 bước. Tính động lực học phân tử với nguyên tắc gia nhiệt mô phỏng (Simulated Annealing) trong phần mềm Sybyl-X 1.1 để thu được cấu dạng có năng lượng toàn phần thấp nhất. Cấu trúc phân tử được gia nhiệt ở nhiệt độ cao (700 K) trong một thời gian nhất định (1000 pico giây) để phân tử tái sắp xếp lại trạng thái hiện tại của nó, sau đó được làm lạnh đến 200 K trong một khoảng thời gian khác (1000 pico giây) về trạng thái ổn định để đưa ra cấu dạng cuối cùng. Chương trình tự động lặp lại 5 lần để tìm ra nhiều cấu dạng khác nhau cần thiết, sau đó tối ưu hóa năng lượng lại để xác định năng lượng không gian (steric) nhằm đưa ra các cấu dạng bền hơn cấu dạng ban đầu với sự khác biệt về năng lượng.

***Bước 3. Mô hình tái lắp ghép phân tử (Re-docking)***

Lắp ghép lại cấu trúc ligand đồng kết tinh trong protein, nhằm mục đích đánh giá tính phù hợp của các thông số lắp ghép. Quá trình này được tiến hành với 3 cấu dạng ligand như sau:

(1)- Tách ligand từ phức chất hợp đồng kết tinh trong protein.

(2)- Tách ligand từ phức hợp đồng kết tinh.

(3)- Chuẩn bị phân tử ligand hoàn toàn mới với cấu trúc bền, năng lượng tối ưu và động lực học phân tử.

Đánh giá thông số RMSD (Root-mean-square deviation), cho biết mức độ sai lệch của các cấu dạng ligand sau lắp ghép so với cấu dạng có sẵn trong cấu trúc tinh thể , và so sánh các tương tác ligand có trong cấu trúc tinh thể và tương tác tạo ra sau khi lắp ghép. Kết quả mô phỏng lắp ghép thực sự đáng tin cậy khi giá trị RMSD < 2,0 Å [20,21] và các tương tác giữa các ligand với protein ban đầu khác nhau không đáng kể.

***Bước 4. Lắp ghép phân tử vào mục tiêu tác động***

Lắp ghép phân tử nghiên cứu trong cơ sở dữ liệu đã chuẩn bị. Tiến hành quy trình lắp ghép với các tùy chọn như sau: phương pháp đặt các mảnh ligand vào túi gắn kết là phép thiết lập phù hợp với cấu trúc 3D; số kết quả tối đa cho mỗi bước lặp là 1000, số kết quả tối đa cho mỗi sự phân mảnh ligand là 200; giữ lại một số cấu dạng tốt nhất của mỗi phân tử hợp chất trong phức hợp (ligand-protein) gắn kết để tiếp tục phân tích tương tác. Cấu dạng tốt với điểm số lắp ghép thấp nhất (Score – kcal.mol$^{-1}$), điểm số này là tổng năng lượng tiêu thụ cho sự hình thành các tương tác gắn kết giữa phân tử nghiên cứu với mục tiêu tác động (protein).

Accepted Paper

***Bước 5. Phân tích kết quả lắp ghép phân tử vào mục tiêu tác động***

Đánh giá khả năng ức chế protein của hợp chất nghiên cứu thông qua việc đánh giá điểm số lắp ghép và tương tác ligand-protein gồm:

+ Năng lượng lắp ghép phân tử DS (kcal.mol$^{-1}$), tham số độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD).

+ Phân tích tương tác giữa phân tử hợp chất với mục tiêu tác động và biểu diễn tương tác trên mặt phẳng 2D, 3D thông qua các liên kết hydrogen, tương tác π-π, tương tác ion, tương tác cation-π. Các tương tác bề mặt van der Waals được phát hiện bởi sự tiếp xúc các bề mặt thân trước, kỵ nước giữa phân tử hợp chất và điểm gắn kết (các amino acid của protein).

## 3 Kết quả và thảo luận

### 3.1 Thành phần hóa học từ tinh dầu lá Kinh giới

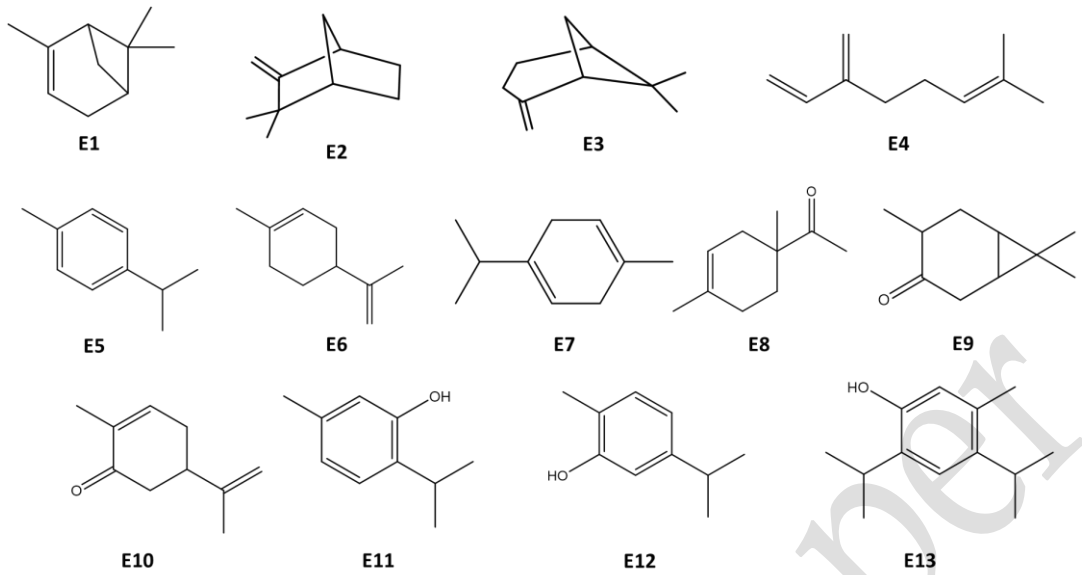
Mẫu tinh dầu từ lá Kinh giới có màu vàng nhạt, trong suốt và nhẹ hơn nước. Thành phần hóa học của tinh dầu Kinh giới thu được thông qua quy trình chiết xuất trên đã được phân tích bằng GC-MS và kết quả được trình bày trong Bảng 1 và Hình 3. Khi định danh và định lượng các cấu tử bằng GC-MS, chúng tôi thiết kế độ trùng lặp (SI) của các hợp chất so với thư viện phổ (NIST14) từ 95% trở lên. Từ kết quả GC-MS có thể thấy rằng có có 13 hợp chất được xác định trong tinh dầu Kinh giới. Hợp chất chiếm tỷ lệ cao nhất trong tinh dầu kinh giới là Carvacrol (73,48 %) tiếp theo là Thymol (15,01 %), p-Cymene (7,74 %)

**Bảng 1.** Thành phần hóa học của tinh dầu lá Kinh giới

| TT | Hợp chất | Công thức phân tử | Thời gian lưu | Kết quả (%) | Ký hiệu |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | α-Pinen | $C_{10}H_{16}$ | 3,53 | 0,73 | **E1** |
| 2 | Camphene | $C_{10}H_{16}$ | 3,73 | 0,44 | **E2** |
| 3 | β-Pinene | $C_{10}H_{16}$ | 4,04 | 0,57 | **E3** |
| 4 | β-Myrcene | $C_{10}H_{16}$ | 4,08 | 0,03 | **E4** |
| 5 | p-Cymene | $C_{10}H_{14}$ | 4,56 | 7,74 | **E5** |
| 6 | D-Limonene | $C_{10}H_{16}$ | 4,62 | 0,12 | **E6** |
| 7 | γ-Terpinene | $C_{10}H_{16}$ | 4,96 | 1,73 | **E7** |
| 8 | Ethanone, 1-(1,4-dimethyl-3-cyclohexen-1-yl)- | $C_{10}H_{16}O$ | 6,26 | 0,04 | **E8** |
| 9 | 4-Caranone, trans | $C_{10}H_{16}O$ | 6,60 | 0,33 | **E9** |
| 10 | Carvone | $C_{10}H_{14}O$ | 7,31 | 0,13 | **E10** |
| 11 | Thymol | $C_{10}H_{14}O$ | 7,74 | 15,01 | **E11** |
| 12 | Carvacrol | $C_{10}H_{14}O$ | 7,89 | 73,48 | **E12** |
| 13 | 5-Methyl-2,4-diisopropylphenol | $C_{13}H_{20}O$ | 9,31 | 0,04 | **E13** |

Accepted paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

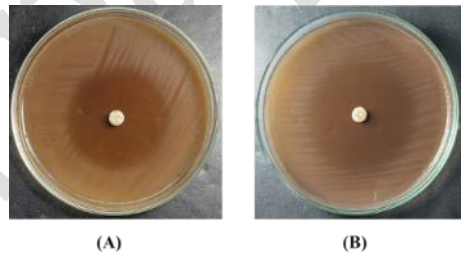



**Hình 3.** Các hợp chất có trong tinh dầu lá Kinh giới

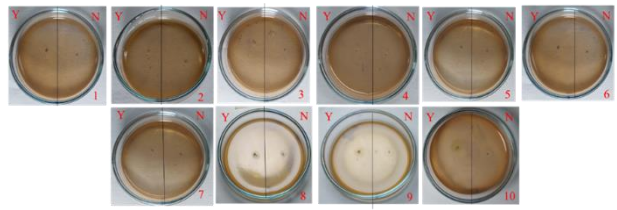
### 3.2 Đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn của tinh dầu lá Kinh giới bằng thực nghiệm *in vitro*

Tiến hành thử kháng khuẩn và xác định giá trị MIC của thuốc đối chứng Penicilin G trên vi khuẩn *S. pneumoniae* và *S.pyogenes* được trình bày trong Hình 4, Hình 5 và Bảng 2. Kết quả cho thấy hai vi khuẩn *S. pneumoniae* và *S.pyogenes* nhạy với Penicillin G với giá trị MIC lần lượt là 0,0625 ($\mu L.mL^{-1}$) và 0,0625 ($\mu L.mL^{-1}$)

Kết quả thử kháng khuẩn và xác định giá trị MIC của tinh dầu lá Kinh giới của hai vi khuẩn *S. pneumoniae* và *S.pyogenes* được trình bày trong Hình 6, Hình 7 và Bảng 3. Dựa vào kết quả trên có thể nhận thấy rằng tinh dầu lá Kinh giới có khả năng ức chế các vi khuẩn *S. pneumoniae* gây ra bệnh hô hấp và vi khuẩn *S.pyogenes* gây ra bệnh vòm họng. Ngoài ra, trong thử nghiệm *in vitro* cũng xác định được giá trị MIC của tinh dầu lá Kinh giới với hai vi khuẩn *S. pneumoniae* và *S.pyogenes* đều bằng 0,15625 ($\mu L.mL^{-1}$) và giá trị này lớn hơn so với thuốc đối chứng Penicillin G và có tiềm năng ứng dụng trong việc ức chế vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp và bệnh vòm họng




**Hình 4.** Kết quả thử khuếch tán của Penicillin G trên (A) *S. pneumoniae* và (B) *S. pyogenes*

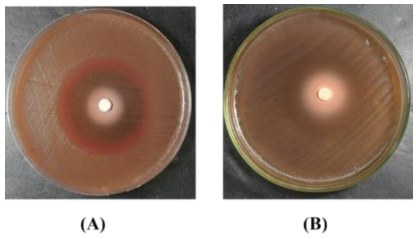


**Hình 5.** Xác định MIC Penicillin: 1 → 9: 4 $\mu g.mL^{-1}$ – 2 $\mu g.mL^{-1}$ – 1 $\mu g.mL^{-1}$ – 0,5 $\mu g.mL^{-1}$ – 0,25 $\mu g.mL^{-1}$ – 0,125 $\mu g.mL^{-1}$ – 0,0625 $\mu g.mL^{-1}$ – 0,03125 $\mu g.mL^{-1}$ – 0,015625 $\mu g.mL^{-1}$; 10: không có kháng sinh. Y: *S. pyogenes*, N: *S. pneumoniae*

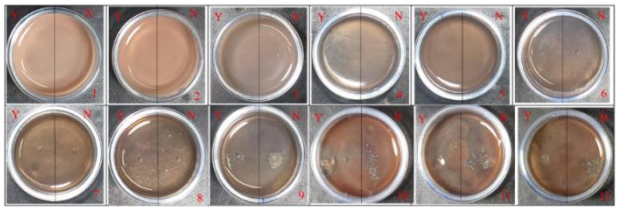
**Bảng 2.** Kết quả kháng khuẩn của penicillin G trên vi khuẩn thử nghiệm

| Penicillin G | Khuếch tán (mm) | MIC ($\mu L.mL^{-1}$) |
|---|---|---|
| *S. pneumoniae* | 40 ± 1 | 0,0625 |
| *S.pyogenes* | 45±1 | 0,0625 |

Accepted paper




**Hình 6.** Kết quả thử khuếch tán của tinh dầu Kinh giới trên (A) *S.pneumoniae* và (B) *S. pyogenes*



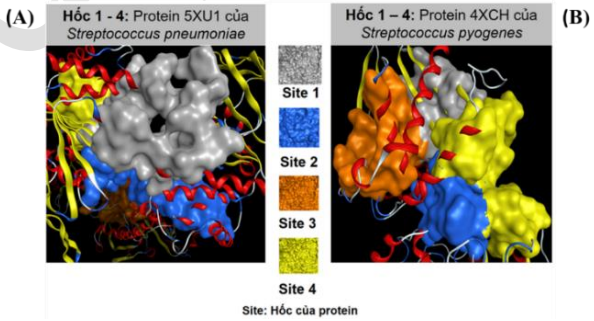
**Hình 7.** Xác định MIC tinh dầu KG: 1 → 11: 20 µg.mL$^{-1}$ – 10 µg.mL$^{-1}$ – 5 µg.mL$^{-1}$ – 2,5 µg.mL$^{-1}$ – 1,25 µg.mL$^{-1}$ – 0,625 µg.mL$^{-1}$ – 0,3125 µg.mL$^{-1}$ – 0,15625 µg.mL$^{-1}$ – 0,078125 µg.mL$^{-1}$ – 0,039 µg.mL$^{-1}$ – 0,0195 µg.mL$^{-1}$; 12: không có tinh dầu Y: *S. pyogenes*, N: *S. pneumoniae*

**Bảng 3.** Kết quả kháng khuẩn của tinh dầu Kinh giới trên vi khuẩn thử nghiệm

| TD Kinh giới | Khuếch tán (mm) | MIC (µL.mL$^{-1}$) |
|---|---|---|
| *S. pneumoniae* | 45 ±1 | 0,15625 |
| *S. pyogenes* | 34 ±1 | 0,15625 |

### 3.3 Đánh giá khả năng ức chế protein 5XU1 (*S. pyogenes*) và protein 4XCH (*S. pneumoniae*) của tinh dầu kinh giới bằng phương pháp mô phỏng docking phân tử

Khảo sát vị trí tiềm năng để các hợp chất **E1-E13** ức chế hiệu quả 2 protein 5XU1 của vi khuẩn *S. pyogenes* gây ra bệnh hô hấp và protein 4XCH của vi khuẩn *S. pyogenes* gây ra bệnh vòm họng với 4 hốc khác nhau (Hình 8). Các hốc tiếp cận tương ứng với các màu sắc khác nhau từ hốc 1 đến hốc 4 cụ thể như sau: hốc 1 (màu xám), hốc 2 (màu xanh lục lam), hốc 3 (màu cam) và hốc 4 (màu vàng) được sử dụng để đánh giá khả năng ức chế của các hợp chất có trong tinh dầu lá Kinh giới với 2 protein 5XU1 và 4XCH. Kết quả của việc sàng lọc hốc của protein nghiên cứu được trình bày ở Bảng 4. Những vị trí thuận lợi cho quá trình ức chế protein là những vị trí có năng lượng docking thấp và số lượng tương tác lớn. Đối với protein 5XU1, hốc 1 thuận lợi cho quá trình ức chế của các hợp chất **E1, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9**; hốc 2 phù hợp cho hợp chất **E2, E11, E12**; hốc 3 thuận lợi cho hợp chất **E10, E13** và hốc 4 thuận lợi cho thuốc đối chứng Penicillin G (**D**). Đối với protein 4XCH, hốc 1: **E1, E2, E3, E6, E7, E8, E9, E10, E12, E13**; hốc 2: **E4, E11**; hốc 3: **E5**; hốc 4: **D**.




**Hình 8.** Cấu trúc của (A) protein 5XU1 của *S. pneumoniae* và (B) protein 4XCH của *S. pyogenes* với các vị trí tiếp cận (hốc) được khảo sát: hốc 1 (màu xám); hốc 2 (màu xanh da trời); hốc 3 (màu cam), hốc 4 (màu vàng)

**Bảng 4.** Sàng lọc kết quả về khả năng ức chế lên các hốc tiềm năng của protein 5XU1 và 4XCH.

| Hợp chất | Protein 5XU1 | | | | | | | | Protein 4XCH | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hốc 1 | | Hốc 2 | | Hốc 3 | | Hốc 4 | | Hốc 1 | | Hốc 2 | | Hốc 3 | | Hốc 4 | |
| | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N |
| **E1** | **-7,3** | **0** | -7,0 | 0 | -6,7 | 0 | -6,5 | 0 | **-9,2** | **1** | -8,7 | 0 | -8,3 | 0 | -8,0 | 0 |
| **E2** | **-7,1** | 0 | **-7,5** | **0** | -7,0 | 0 | -7,2 | 0 | **-8,9** | **1** | -7,8 | 0 | -7,3 | 0 | -7,0 | 0 |
| **E3** | **-8,0** | **0** | -7,6 | 0 | -7,3 | 0 | -7,0 | 0 | **-9,0** | **1** | -8.3 | 0 | -7,8 | 0 | -7.2 | 0 |

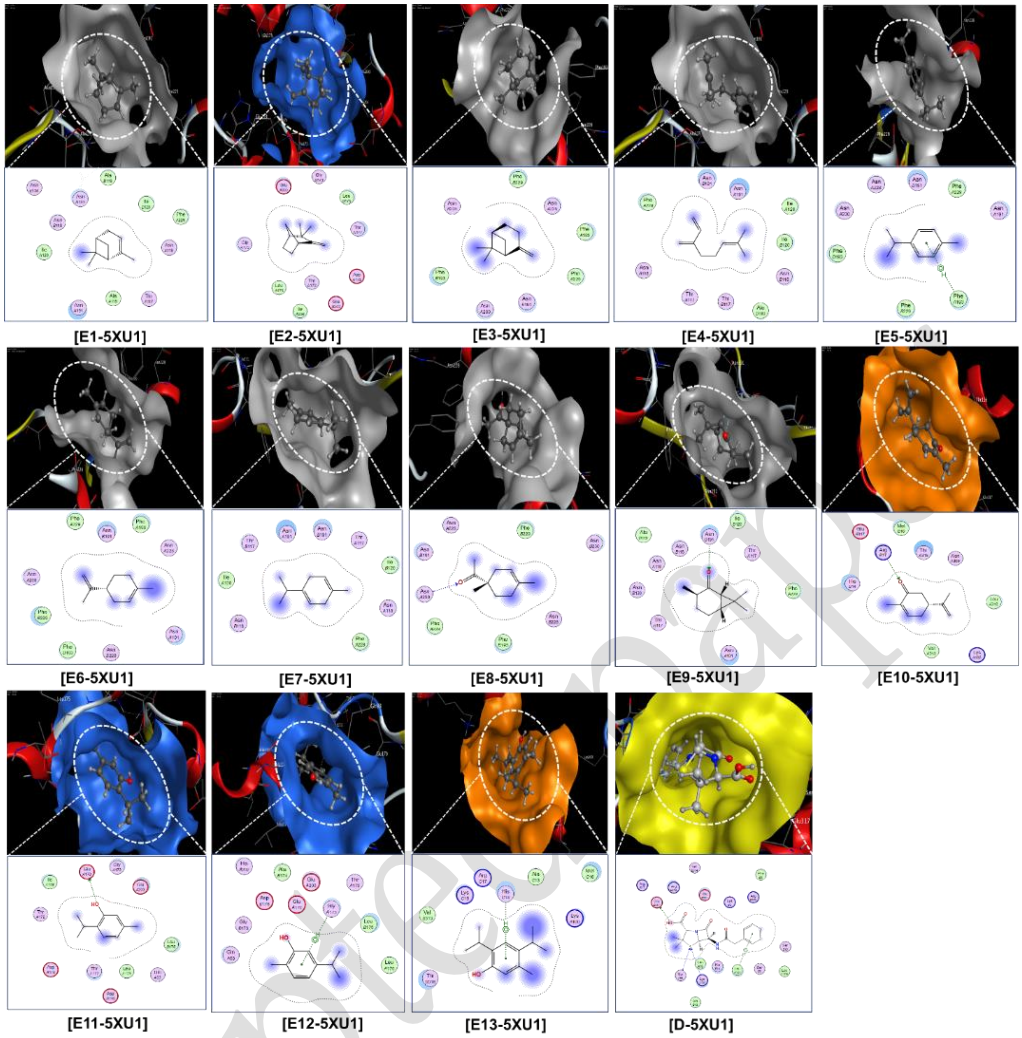
Accepted Paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

| Hợp chất | Protein 5XU1 | | | | | | | | Protein 4XCH | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hốc 1 | | Hốc 2 | | Hốc 3 | | Hốc 4 | | Hốc 1 | | Hốc 2 | | Hốc 3 | | Hốc 4 | |
| | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N | E | N |
| **E4** | **-7,4** | **0** | -7,2 | 0 | -6,8 | 0 | -6,4 | 0 | -7,7 | 0 | **-8,7** | **1** | -6,9 | 0 | -7,0 | 0 |
| **E5** | **-9,9** | **1** | -8.4 | 0 | -8.0 | 0 | -7.6 | 0 | -7,8 | 0 | -7,2 | 0 | **-9,3** | **1** | -6,9 | 0 |
| **E6** | **-8,1** | **1** | -7,7 | 0 | -7,1 | 0 | -7,0 | 0 | **-8,5** | **1** | -8,0 | 0 | -7,6 | 0 | -7,0 | 0 |
| **E7** | **-7,2** | **1** | -6,8 | 0 | -6,5 | 0 | -6,1 | 0 | **-8,2** | **1** | -7,7 | 0 | -7,1 | 0 | -6,8 | 0 |
| **E8** | **-9,7** | **1** | -7,9 | 0 | -7,4 | 0 | -6.9 | 0 | **-12,3** | **3** | -10,9 | 2 | -10,5 | 2 | -9,8 | 1 |
| **E9** | **-10,0** | **1** | -8,9 | 0 | -9,0 | 0 | -8.7 | 0 | **-11,4** | **2** | -9,9 | 1 | -8,4 | 0 | -9,2 | 1 |
| **E10** | -8.5 | 0 | -7,8 | 0 | **-9,3** | **1** | -7.4 | 0 | **-11,0** | **2** | -8,9 | 0 | -9,4 | 1 | -9,6 | 1 |
| **E11** | -7,6 | 0 | **-9,8** | **1** | -7.3 | 0 | -7.0 | 0 | -9,5 | 1 | **-12,0** | **3** | -10,4 | 2 | -9,2 | 1 |
| **E12** | -9,0 | 0 | **-10,1** | **1** | -8,8 | 0 | -8,1 | 0 | **-10,9** | **2** | -8,8 | 1 | -8,5 | 1 | -8,0 | 0 |
| **E13** | -8,4 | 0 | -8,2 | 0 | **-9,6** | **1** | -8,3 | 0 | **-9,1** | **1** | -7,8 | 0 | -7,2 | 0 | -7,0 | 0 |
| **D** | -10,0 | 2 | -9,8 | 2 | -8,9 | 1 | **-12,9** | **4** | -11,2 | 3 | -11,7 | 3 | -10,9 | 2 | **-13,8** | **6** |
| **E: năng lượng docking DS (kcal.mol$^{-1}$); N: số tương tác** | | | | | | | | | | | | | | | | |

Khả năng ức chế protein 5XU1 của các hợp chất **E1-E13** và thuốc đối chứng peniciline G (**D**) đã được nghiên cứu bằng phương pháp mô phỏng lắp ghép phân tử. Kết quả về thông số quá trình docking như năng lượng docking (DS), chỉ số RMSD, các tương tác van der Waals, liên kết hydro được trình bày trong Bảng 4 và hình ảnh mô phỏng 2D-3D quá trình ức chế được chỉ ra trong Hình 9. Nhận thấy rằng, tất cả các giá trị RMSD < 2 Å nên kết quả mô phỏng đáng tin cậy [21]. Các hợp chất **E1, E2, E3, E4, E6, E7** có khoảng năng lượng DS từ -7,2 đến -8,1 kcal.mol$^{-1}$ và ngoài ra các hợp chất này không tạo được liên kết hydro với các amino acid của protein 5XU1 nhưng có xuất hiện tương tác van der Waals với các amino acid thường từ 7 đến 11 tương tác. Nên nhóm các chất **E1, E2, E3, E4, E6, E7** được xếp vào nhóm ức chế yếu với protein 5XU1 thông qua các tương tác van der Waals. Mặt khác, dựa vào kết quả ức chế có thể nhận thấy rằng, hợp chất **E12** giá trị DS thấp nhất (-10,1 kcal.mol$^{-1}$), có 1 liên kết hydro và 10 tương tác van der Waals và kết quả ức chế của hợp chất **E12** cho hiệu quả ức chế protein 5XU1 tốt hơn so với thuốc đối chứng **D**. Từ bảng 4 có thể đưa ra dãy giảm dần khả năng ức chế protein 5XU1 như sau: **D > E12 > E9 > E5 > E11 > E8 > E13 > E10 > E6 > E3 > E2 > E4 > E1 > E7.**

Accepted paper




**Hình 9.** Mô phỏng 2D-3D của tương tác giữa hợp chất nghiên cứu **E1-E13** và thuốc penicillin G với protein 5XU1 của vi khuẩn *S.pneumoniae*

**Bảng 5.** Thông số của quá trình tương tác bằng mô phỏng docking phân tử giữa 13 hoạt chất trong tinh dầu Kinh giới (E1-E13) và thuốc đối chứng D với protein 5XU1 của vi khuẩn gây bệnh hô hấp (S. pneumoniae).

| **Phức (Ligan – Protein)** | | | **Liên kết Hydro** | | | | | | **Liên kết van der Waals** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Phức** | **DS** | **RMSD** | **L** | **P** | | **T** | **D** | **E** | |
| **E1-5XU1** | -7,3 | 0,80 | - | - | - | - | - | - | Asn130(B), Ile120(A), Asn118(B), Asn191(B), Ala119(B), Ile120(B), Phe229(A), Asn118(A), Thr117(A), Ala119(A), Asn191(A) |
| **E2-5XU1** | -7,5 | 0,94 | - | - | - | - | - | - | Glu203(A), Gly173(B), Leu175(B), Thr177(A), Asp176(A), Glu203(B), Thr172(A), Ile206(A), Leu175(A), Gly173(A) |

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

| Phức (Ligan – Protein) | | | Liên kết Hydro | | | | | | Liên kết van der Waals |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Phức | DS | RMSD | L | P | | T | D | E | |
| **E3-5XU1** | -8,0 | 1,95 | - | - | - | - | - | - | Asn228(B), Phe229(B), Asn228(A), Phe193(A), Phe229(A), Asn191(B), Asn230(A), Phe193(B) |
| **E4-5XU1** | -7,4 | 0,82 | - | - | - | - | - | - | Phe229(A), Asn191(B), Asn191(A), Ile120(A), Ile120(B), Asn118(B), Ala119(B), Thr117(B), Thr117(A), Asn118(A) |
| **E5-5XU1** | -9,9 | 1,34 | 6-ring | C | Phe193(A) | π-H | 3,48 | -0,8 | Phe229(B), Phe193(B), Asn230(A), Asn228(A), Asn191(B), Phe229(A), Asn191(A) |
| **E6-5XU1** | -8,1 | 1,16 | - | - | - | - | - | - | Asn191(A), Asn228(B), Phe193(B), Phe229(B), Asn230(A), Phe229(A), Asn191(B), Phe193(A), Asn228(A) |
| **E7-5XU1** | -7,2 | 1,86 | - | - | - | - | - | - | Asn118(B), Ile120(A), Thr117(B), Asn191(A), Asn191(B), Thr117(A), Ile120(B), Asn118(A), Phe229(A) |
| **E8-5XU1** | -9,7 | 1,64 | O | N | Asn230(A) | H-acceptor | 2,97 | -2,3 | Asn191(B), Asn228(A), Phe229(B), Asn230(B), Asn228(B), Phe193(B), Phe229(A) |
| **E9-5XU1** | -10,0 | 0,52 | O | N | Asn191(A) | H-acceptor | 2,84 | -2,1 | Ile120(B), Thr117(A), Phe229(A), Asn191(A), Thr117(B), Asn130(B), Asn118(A), Asn118(B), Ala119(B) |
| **E10-5XU1** | -9,3 | 0,70 | O | N | Arg17(A) | H-acceptor | 2,97 | -1,7 | His14(B), Glu317(B), Met16(B), Thr316(A), Asn309(A), Leu312(A), Lys406(A), Val313(A) |
| **E11-5XU1** | -9,8 | 1,40 | O | O | Glu170(A) | H-donor | 3,20 | -1,3 | Thr172(A), Ile206(A), Gly173(A), Glu203(A), Leu175(B), Gln93(A), Leu175(A), Asp176(B), Thr177(A), Asp176(A) |
| **E12-5XU1** | -10,1 | 1,32 | 6-ring | C | Gly173(A) | π-H | 3,77 | -0,8 | Gln93(A), Gly173(B), Asp176(B), His202(A), Glu170(A), Ala174(B), Glu202(A), Thr172(A), |

Accepted paper

| Phức (Ligan – Protein) | | | Liên kết Hydro | | | | | | Liên kết van der Waals |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Phức** | **DS** | **RMSD** | **L** | **P** | | **T** | **D** | **E** | |
| | | | | | | | | | Leu175(B), Leu175(A) |
| **E13-5XU1** | -9,6 | 1,13 | 6-ring | C | His14(A) | π-H | 3,11 | -0,6 | Thr316(B), Val313(B), Lys15(C), Arg17(C), Ala13(C), Met16(C), Lys100(A) |
| **D-5XU1** | -12,9 | 1,21 | O | O | Glu317(S) | H-donor | 2,85 | -7,8 | Ser314(B), Phe6(B), Arg17(B), Arg318(B), Glu321(B), Lys5(B), Arg325(B), Ser10(B), Leu109(A), Ser9(B), His14(B), Leu98(A), Ala13(B) |
| | | | S | N | Ser99(A) | H-acceptor | 4,03 | -1,6 | |
| | | | S | N | Lys100(A) | H-acceptor | 4,34 | -1,1 | |
| | | | 6-ring | C | Leu101(A) | Pi-H | 3,94 | -0,9 | |

**DS**: Năng lượng ức chế (kcal.mol$^{-1}$); **RMSD**: Độ lệch bình phương trung bình (Å); **L**: Ligand; **P**: Protein; **T**:Dạng liên kết; **D**: Khoảng cách (Å); **E**: Năng lượng cục bộ (kcal.mol$^{-1}$)

Nghiên cứu khả năng ức chế protein 4XCH của 13 chất có trong tinh dầu lá Kinh giới bằng phương pháp docking phân tử và kết quả được trình bày trong Bảng 5. Hình ảnh mô phỏng 2D-3D của quá trình ức chế được trình bày trong Hình 10. Nhận thấy rằng, tất cả các giá trị RMSD < 2 Å nên kết quả mô phỏng đáng tin cậy. Trong 13 hoạt chất thì hợp chất **E8** có khả năng ức chế tốt protein 4XCH với giá trị docking bằng -12,3 kcal.mol$^{-1}$; có số liên kết hydro lớn nhất (3 liên kết hydro) và có số tương tác van der Waals là 9 tương tác. Khi so sánh với kết quả docking của thuốc đối chứng **D** thì giá trị năng lượng docking DS của hợp chất **E8** lớn hơn nên về mặt lý thuyết thì hợp chất **E8** có khả năng ức chế protein 4XCH tốt hơn thuốc đối chứng **D**. Dựa vào kết quả ức chế, có thể sắp xếp một cách tương đối khả năng ức chế protein 4XCH như sau: **E8 > E11 > E9 > E10 > E12 > E5 > E1 > E13 > E3 > E2 > E4 > E6 > E7.**

Accepted Paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

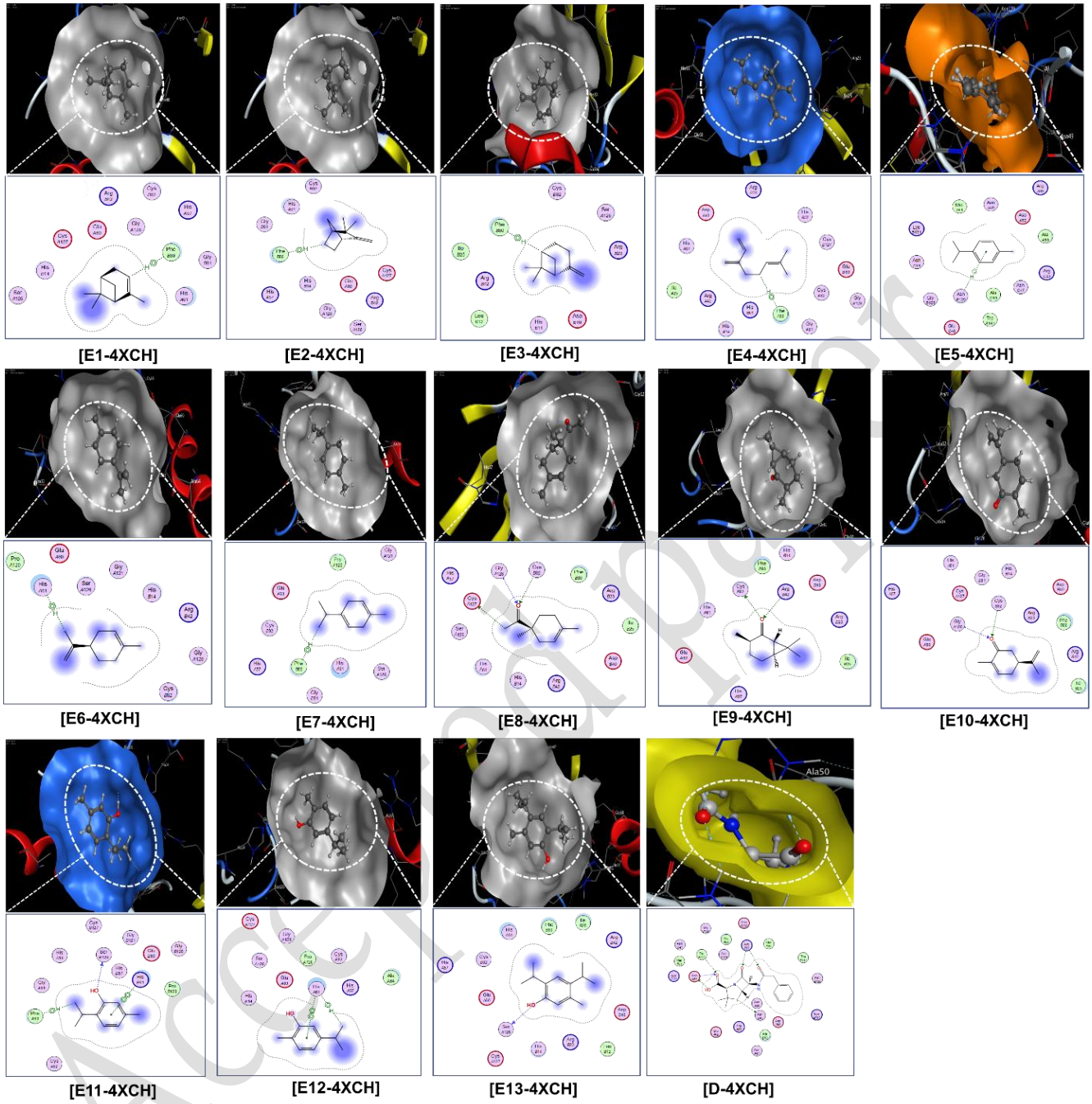



**Fig. 10.** Mô phỏng 2D-3D của tương tác giữa hợp chất nghiên cứu **E1-E13** và thuốc penicillin G với protein 4XCH của vi khuẩn *S. pyogenes*.

Accepted paper

**Bảng 6.** Thông số của quá trình tương tác bằng mô phỏng docking phân tử giữa 13 hoạt chất trong tinh dầu Kinh giới (E1-E13) với protein 4XCH của vi khuẩn gây bệnh vòm họng (S. pyogenes)

| Phức (Ligand-protein) | | | Liên kết Hydro | | | | | | Liên kết van der Waals |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Phức | DS | RMSD | L | P | | T | D | E | |
| **E1-4XCH** | -9,2 | 1,06 | C | 6-ring | Phe80(B) | H-π | 3,02 | -0,8 | Ser126(A), His14(B), Cys127(A), Glu60(A), Arg42(B), Gly128(A), Cys82(B), His57(A), Gly81(B), His61(A) |
| **E2-4XCH** | -8,9 | 1,49 | C | 6-ring | Phe80(B) | H-π | 3,22 | -0,8 | Cys82(B), His61(A), Gly81(B), His57(A), His14(B), Gly128(A), Glu60(A), Cys127(A), Arg42(B), Ser126(A) |
| **E3-4XCH** | -9,0 | 1,53 | C | 6-ring | Phe80(B) | H-π | 2,82 | -0,6 | Cys82(B), Ser126(A), Arg23(B), Asp40(B), His14(D), Leu12(B), Arg42(B), Ile25(B) |
| **E4-4XCH** | -8,7 | 1,15 | C | 6-ring | Phe80(A) | H-π | 2,96 | -0,7 | Ile25(A), His87(A), Asp40(A), Arg23(A), His57(B), Cys127(B), Glu60(B), Cys82(A), Gly128(B), Gly81(A), His61(B), His14(A), Arg42(A) |
| **E5-4XCH** | -9,3 | 1,79 | 6-ring | N | Asn129(C) | π-H | 3,,9 | -1,3 | Glu48(C), Gly128(B), Asn49(C), Lys131(B), Met51(A), Asn49(A), Asp52(A), Arg83(A), Ala50(A), Arg83(C), Asn47(C), Ala50(C), Trp141(A) |
| **E6-4XCH** | -8,5 | 1,11 | C | 5-ring | His61(A) | H-π | 3,05 | -0,7 | Pro120(A), Glu60(A), Ser126(A), Gly121(A), His14(B), Arg42(B), Gly128(A), Cys82(B) |
| **E7-4XCH** | -8,2 | 1,17 | C | 6-ring | Phe80(B) | H-π | 3,27 | -0,6 | Ser126(A), His61(A), Gly81(B), His57(A), Cys82(B), Glu60(A), Pro120(A), Gly121(A) |
| **E8-4XCH** | -12,3 | 1,30 | C | S | Cys127(A) | H-donor | 3,08 | -0,9 | His57(A), Ser126(A), His61(A), His14(B), Arg42(B), Asp40(B), Ile25(B), Arg23(B), Phe80(B) |
| | | | O | N | Gly128(A) | H-acceptor | 3,29 | -1,2 | |
| | | | O | S | Cys82(B) | H-acceptor | 3,42 | -0,9 | |
| **E9-4XCH** | -11,4 | 1,67 | O | S | Cys82(B) | H-donor | 3,23 | -1,1 | His57(A), Glu60(A), His61(A), Phe80(B), His14(B), Asp40(B), |
| | | | O | N | Arg42(B) | H-acceptor | 3,13 | -0,8 | |

Accepted paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | Arg23(B), Ile25(B) |
| **E10-4XCH** | -11,0 | 0,95 | O | N | Gly128(A) | H-acceptor | 3,41 | -1,4 | Glu60(A), His57(A), Cys127(A), His61(A), Gly81(B), His14(B), Arg23(B), Asp40(B), Phe80(B), Arg42(B), Ile25(B) |
| | | | O | S | Cys82(B) | H-acceptor | 3,25 | -0,8 | |
| **E11-4XCH** | -12,0 | 1,69 | O | O | Ser126(B) | H-donor | 3,37 | -1,1 | Cys82(A), Gly81(A), His14(A), Cys127(B), His57(B), Gly121(B), Glu60(B), Gly128(B), Pro120(B) |
| | | | C | 6-ring | Phe80(A) | H-π | 3,44 | -0,7 | |
| | | | 6-ring | 5-ring | His61(B) | π-π | 3,50 | -0,0 | |
| **E12-4XCH** | -10,9 | 1,06 | C | 5-ring | His61(A) | H-π | 3,16 | -0,6 | His14(B), Ser126(A), Glu60(A), Cys127(A), Gly128(A), Pro120(A), Cys82(B), His57(A), Ala64(A) |
| | | | 6-ring | 5-ring | His61(A) | π-π | 3,80 | -0,0 | |
| **E13-4XCH** | -9,1 | 0,86 | O | O | Ser126(A) | H-donor | 3,28 | -1,5 | Glu60(A), His57(A), Cys82(B), His61(A), Phe80(B), Ile25(B), Arg42(B), Asp40(B), Leu12(B), Arg23(B), His14(B), Cys127(A) |
| **D-4XCH** | -13,8 | 1,03 | S | O | Asn49(D) | H-donor | 4,22 | -0,4 | Lys131(C), Met51(A), Asn47(D), Gly128(C), Ala50(A), Asp132(C), Met51(D), Trp141(D), Asn129(B), Lys131(B), Asp52(D), Asn49(A), Ala50(D), Asn47(A), Arg83(A), Glu48(A), Asn129(C) |
| | | | O | O | Asp52(A) | H-donor | 2,73 | -3,9 | |
| | | | O | N | Arg83(D) | H-acceptor | 2,80 | -3,5 | |
| | | | O | N | Asp52(A) | H-acceptor | 2,72 | -2,1 | |
| | | | O | N | Trp141(A) | H-acceptor | 2,98 | -1,3 | |
| | | | O | N | Arg83(D) | H-acceptor | 2,90 | -2,7 | |

**DS**: Năng lượng ức chế (kcal,mol$^{-1}$); **RMSD**: Độ lệch bình phương trung bình (Å); **L**: Ligand; **P**: Protein; **T**:Dạng liên kết; **D**: Khoảng cách (Å); **E**: Năng lượng cục bộ (kcal,mol$^{-1}$)

Kết quả của quá trình mô phỏng docking phân tử giữa 13 hoạt chất trong tinh dầu lá Kinh giới, thuốc Peniciline G với hai protein 4XCH, 5XU1 có thể thấy rằng, những hợp chất có trong tinh dầu cây Kinh giới với cấu trúc có nhân thơm, có chứa nhóm carbonyl (-C=O) hoặc chứa nhiều liên kết đôi sẽ tương tác mạnh với các amino acid có trong protein 5XU1, 4XCH dẫn đến sẽ đạt được hiệu quả ức chế cao. Trong số 13 hợp chất trong tinh dầu cây Kinh giới, hợp chất **E12** (Carvacrol) và **E8** là hợp chất có khả năng ức chế mạnh nhất với hai protein 5XU1, 4XCH và đây cũng là hợp chất chiếm tỉ lệ lớn nhất trong thành phần hóa học của tinh dầu Kinh giới (73,48 %). Từ kết quả mô phỏng có thể bước đầu khẳng định hợp chất **E12, E8** cũng như tinh dầu lá Kinh giới có khả năng ức chế tốt hai protein 5XU1, 4XCH và định hướng cho các nghiên cứu thực nghiệm tiếp theo.

## 4 Kết luận

Đã tách chiết và xác định được thành phần tinh dầu lá Kinh giới với thành phần chính là Carvacrol (73,48 %) tiếp theo là Thymol (15,01 %), p-Cymene (7,74 %). Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu Kinh giới đối với vi khuẩn gây bệnh hô

Accepted paper

hấp (*S.pneumoniae*) và vi khuẩn gây bệnh vòm họng (*S. pyogenes*). Cụ thể, đường kính kháng khuẩn 45 mm; MIC ở nồng độ 0,15625 $\mu L.mL^{-1}$ trên chủng *S. pneumoniae* và tương ứng 34 mm; 0,15625 $\mu L.mL^{-1}$ trên chủng *S. pyogenes.* Mô phỏng docking phân tử khẳng định được tinh dầu Kinh giới các hợp chất có khả năng ức chế tốt protein 5XU1 của vi khuẩn gây bệnh hô hấp *(S. pneumoniae)* theo dãy sau: **E12 > E9 > E5 > E11 > E8 > E13 > E10 > E6 > E3 > E2 > E4 > E1 > E7**. Khả năng ức chế protein 4XCH của các hợp chất trong tinh dầu kinh giới theo thứ tự giảm dần: **E8 > E11 > E9 > E10 > E12 > E5 > E1 > E13 > E3 > E2 > E4 > E6 > E7**. Từ đó có thể nhận thấy rằng các hợp chất có trong tinh dầu lá Kinh giới có tiềm năng trong việc điều trị nhiễm khuẩn hô hấp và vòm họng

## Tài liệu tham khảo


1. D'Amato G, Cecchi L, D'Amato M, Annesi-Maesano I. Climate change and respiratory diseases. Eur Respir Rev. 2014;23(132):161-9.
2. Piret J, Boivin G. Pandemics throughout history. Front Microbiol. 2021;11:631736.
3. Esakandari H, Nabi-Afjadi M, Fakkari-Afjadi J, Farahmandian N, Miresmaeili SM, Bahreini E. A comprehensive review of COVID-19 characteristics. Biol Proced Online. 2020;22(1):1-10.
4. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. N Engl J Med. 2020;382(12):1177-9.
5. Jiang C, Yao X, Zhao Y, Wu J, Huang P, Pan C, et al. Comparative review of respiratory diseases caused by coronaviruses and influenza A viruses during epidemic season. Microbes Infect. 2020;22(6–7):236-44.
6. Chakraborty S, Chauhan A. Fighting the flu: a brief review on anti-influenza agents. Biotechnol Genet Eng Rev. 2023;1-52.
7. Lewnard JA, Cobey S. Immune history and influenza vaccine effectiveness. Vaccines. 2018;6(2):28.
8. Sherman AC, Mehta A, Dickert NW, Anderson EJ, Rouphael N. The future of flu: a review of the human challenge model and systems biology for advancement of influenza vaccinology. Front Cell Infect Microbiol. 2019;9:107.
9. Fair RJ, Tor Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. Perspect Medicin Chem. 2014;6:PMC-S14459.
10. Lợi ĐT. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y Học. :72-5.
11. Arshad Z, Hanif MA, Qadri RWK, Khan MM, Babarinde A, Omisore GO, et al. Role of essential oils in plant diseases protection: a review. Int J Chem Biochem Sci. 2014;6:11-7.
12. Jeong JH, Lim HB. Chemical composition and biological activities of Elsholtzia ciliata (Thunb.) hylander. Korean J Med Crop Sci. 2004;12(6):463-72.
13. Pudziuvelyte L, Stankevicius M, Maruska A, Petrikaite V, Ragazinskiene O, Draksiene G, et al. Chemical composition and anticancer activity of Elsholtzia ciliata essential oils and extracts prepared by different methods. Ind Crops Prod. 2017;107:90-6.
14. Liu A, Lee SMY, Wang Y, Du G. Elsholtzia: review of traditional uses, chemistry and pharmacology. J Chinese Pharm Sci. 2007;16(2):73.
15. Ma J, Xu RR, Lu Y, Ren DF, Lu J. Composition, antimicrobial and antioxidant activity of supercritical fluid extract of Elsholtzia ciliata. J Essent Oil Bear Plants. 2018;21(2):556-62.
16. Thai KM, Le DP, Tran TD, Le MT. Computational assay of Zanamivir binding affinity with original and mutant influenza neuraminidase 9 using molecular docking. J Theor Biol. 2015;385:31-9.
17. Tarasova O, Poroikov V, Veselovsky A. Molecular docking studies of HIV-1 resistance to reverse transcriptase inhibitors: Mini-review. Molecules. 2018;23(5):1233.
18. Ngo TD Du, Tran TDD, Le MTT, Thai KMM. Computational predictive models for P-glycoprotein inhibition of in-house chalcone derivatives and drug-bank compounds. Mol Divers. 2016;20(4):945-61.
19. Babu TMC, Rajesh SS, Bhaskar BV, Devi S, Rammohan A, Sivaraman T, et al. Molecular docking, molecular dynamics simulation, biological evaluation and 2D QSAR analysis of flavonoids from Syzygium alternifolium as potent anti-


Accepted paper

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

Helicobacter pylori agents. RSC Adv. 2017;7(30):18277-92.

20. Yusuf D, Davis AM, Kleywegt GJ, Schmitt S. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. J Chem Inf Model. 2008;48(7):1411-22.

21. Ding Y, Fang Y, Moreno J, Ramanujam J, Jarrell M, Brylinski M. Assessing the similarity of ligand binding conformations with the Contact Mode Score. Comput Biol Chem. 2016;64(1):403-13.

Accepted paper