DATA ANALYSIS OF SECONDARY METABOLITES IN SILVER OAK PLANT (*Grevillea robusta* A.Cunn. ex R.Br.) FOR ANTIBACTERIAL EFFECTS AGAINST FtsZ

Bui Quoc Dung
Buon Ma Thuot Medical University

ARTICLE INFO

Received: 22/11/2023
Revised: 05/3/2024
Published: 11/3/2024

KEYWORDS

Grevillea robusta
Phenolic
FtsZ
Docking
Antibacterial

ABSTRACT

Many studies have indicated that the silver oak tree contains numerous compounds with antibacterial properties, mainly targeting a novel bacterial target, FtsZ. This research aimed to predict the molecular-scale inhibitory potential against FtsZ, supporting experimental studies. Secondary metabolites of silver oak were gathered from articles in the Pubmed and Researchgate libraries. The crystal structure 6YD5 from the protein database (RCSB) was utilized. Raw data and post-docking results were processed and visualized using the Python programming language with the Visual Studio Code text editor and supporting libraries like pandas, matplotlib, and seaborn. 125 compounds in 9 articles from 2000 to 2021 were collected. The most prominent group is phenols, with 105 compounds. 68 compounds underwent docking in 103. Quercetin, a flavonoid, had the lowest docking score at -22.7 kJ/mol. Simple phenolic compounds (phenolic acid, phenolic ester, another subgroup with simple phenol structure, coumarin) and polyphenols (flavonoids) are potential anti-bacterial compounds by anti-FtsZ mechanism. Ethyl acetate and chloroform fractions show good potential for inhibiting FtsZ. Leaves and flowers are recommended for extraction.

PHÂN TÍCH DỮ LIỆU CHẤT CHUYỂN HOÁ THỨ CẤP TRONG CÂY NGÂN HOA (*Grevillea robusta* A.Cunn. ex R.Br.) HƯỚNG TÁC DỤNG CHỐNG FtsZ

Bùi Quốc Dũng
Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận bài: 22/11/2023
Ngày hoàn thiện: 05/3/2024
Ngày đăng: 11/3/2024

TỪ KHÓA

Grevillea robusta
Phenolic
FtsZ
Docking
Kháng khuẩn

TÓM TẮT

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng cây Ngân hoa chứa nhiều hợp chất có khả năng kháng khuẩn, đặc biệt nhắm mục tiêu mới của vi khuẩn là FtsZ. Nghiên cứu này được thực hiện với mong muốn dự đoán khả năng ức chế FtsZ quy mô phân tử, hỗ trợ các nghiên cứu thực nghiệm. Chất chuyển hoá của Ngân hoa được sưu tập từ các bài báo trong thư viện Pubmed, Researchgate. Cấu trúc tinh thể 6YD5 trên ngân hàng cơ sở dữ liệu protein (RCSB) được sử dụng. Dữ liệu thô và dữ liệu sau khi có kết quả docking được xử lý và trực quan hoá với ngôn ngữ lập trình Python bằng trình biên tập mã Visual Studio Code và các thư viện hỗ trợ pandas, matplotlib, seaborn. 125 chất trong 9 bài báo từ năm 2000 đến năm 2021 đã được thu thập. Nhóm có số lượng chất nổi trội là phenol với 105 chất. 68 chất docking được, trong tổng số 103 chất. Quercetin là một flavonoid cho điểm số docking thấp nhất -22,7 kJ/mol. Các hợp chất phenolic đơn giản (phenolic acid, phenolic ester, phân nhóm khác có cấu trúc phenol đơn giản và coumarin) cũng như polyphenol (flavonoid) là những hợp chất tiềm năng chống vi khuẩn theo cơ chế kháng FtsZ. Phân đoạn ethyl acetat và cloroform là phân đoạn có thể cho tác dụng ức chế FtsZ tốt. Nên sử dụng lá, hoa để chiết xuất.

DOI: https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9262

Email: bqdung@bmtuvietnam.com

1. Đặt vấn đề

Cây Ngân hoa (*Grevillea robusta* A.Cunn. ex R.Br.) được người Pháp du nhập vào nước ta và trồng làm cảnh quan tại Bảo Lộc, Lâm Đồng. Đến nay, cây được trồng nhiều ở các tỉnh phía Bắc vì cây mọc nhanh, thích hợp với đất acid nghèo kiệt đồi núi. Cây rất thích hợp trồng đường phố nơi có vỉa hè, tầng đất sâu thoáng trên 1 m [1]. Cây Ngân hoa chứa nhiều hợp chất có khả năng ức chế enzyme, kháng virus HIV, chống gốc tự do, kháng viêm, kháng ung thư [2]-[5].

Md Sharif Ullah và cộng sự đã đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của *G. robusta* trên 5 vi khuẩn gram dương và 8 gram âm, 3 loại nấm và kết quả được so sánh với kháng sinh ciprofloxacin. Phân đoạn dung môi carbon tetraclorid và cloroform thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với vùng ức chế nằm trong khoảng từ 7 đến 17 mm so với chất đối chiếu là ciprofloxacin (34-45 nm). Vùng ức chế cao nhất (17 mm) được biểu thị ở phân đoạn chloroform chống lại *Salmonella typhi* [6]. Năm 2019, Ian Edwin Cock và cộng sự đã nghiên cứu sự ức chế sự phát triển vi khuẩn gram dương và gram âm với chiết xuất methanol từ lá và hoa của *G. robusta*. Chiết xuất *G. robusta* ức chế tốt sự phát triển của cả vi khuẩn gram dương và gram âm nhưng hoàn toàn không có hiệu quả đối với tất cả các loài nấm được thử nghiệm. Chất chiết xuất từ lá thường có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn chất chiết xuất từ hoa. Dịch chiết lá *G. robusta* là chất ức chế mạnh sự phát triển của *Bacillus cereus* và *Bacillus subtilis* (tương ứng là 145 và 83 µg/mL). Chiết xuất cũng ức chế tốt sự phát triển của *Alcaligenes feacalis, Pseudomonas fluorescens, Salmonella salford, Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus cholermidis*, mặc dù có giá trị MIC cao hơn đáng kể. Tất cả các chất chiết xuất được xác định là không độc trong xét nghiệm sinh học *Artemia franciscana* nauplii, cho thấy sự an toàn của chúng trong điều trị nhiễm khuẩn [7]. Năm 2018, Hoàng Xuân Huyền Trang và Nguyễn Thị Hoài đã tiến hành nghiên cứu để tìm kiếm các chất kháng khuẩn mới từ 72 loài thực vật thu hái ở miền Trung Việt Nam. Các mẫu thực vật được chiết xuất bằng metanol. Sau đó, chất chiết xuất được sử dụng để đánh giá tác dụng ức chế FtsZ. Sau quá trình thực hiện nghiên cứu, ba mẫu cho thấy hoạt tính ức chế FtsZ đáng kể trong số 72 dịch chiết từ thực vật được thu thập ở miền Trung Việt Nam. Dịch chiết *Annona glabra* L., *Grevillea robusta* A. Cunn. ex R. Br. và *Sarcosperma affine* Gagnep. ức chế hoạt động của FtsZ GTPase ở mức 55,76 ± 4,20%, 64,43 ± 5,55% và 88,36 ± 6,50%, nồng độ thử nghiệm là 500 µg/mL [8].

FtsZ là một trong những mục tiêu tiềm năng và được phát hiện là có ảnh hưởng đáng kể đến tuổi thọ của vi khuẩn. FtsZ cần thiết cho sự tồn tại và phân chia của tế bào vi khuẩn. FtsZ hiện diện trong hầu hết các vi khuẩn nhưng không có trong các tế bào nhân chuẩn. Do đó, tác dụng của kháng sinh trên FtsZ sẽ chọn lọc, ít độc và an toàn hơn với cơ thể người. Các kháng sinh sẽ liên kết với FtsZ, ức chế quá trình tổng hợp FtsZ dẫn đến ức chế quá trình phân chia tế bào của vi khuẩn [8]. Cụ thể, FtsZ có cấu trúc tương đồng của tubulin nhân chuẩn. Các protein FtsZ và tubulin được trùng hợp theo cách phụ thuộc vào GTP để tạo thành các sợi khung tế bào để phân chia tế bào, nhưng có các chức năng khác nhau. Các protein tubulin trùng hợp thành các vi ống chịu trách nhiệm vận chuyển thông tin di truyền đến các cực của tế bào đang phân chia. Trong khi đó, FtsZ trùng hợp thành các vòng Z cùng với các protein phân chia khác, chịu trách nhiệm phân chia tế bào vi khuẩn thành các tế bào con. FtsZ có cấu trúc tương tự như tubulin, nhưng tỷ lệ đồng nhất trình tự chỉ là 10–18% [9].

Trong tình hình kháng kháng sinh đáng lo ngại hiện nay, việc tìm hiểu chi tiết về thành phần có hoạt tính của dược liệu Ngân hoa, đặc biệt là khả năng ức chế hoạt tính của protein FtsZ, là vô cùng cấp thiết. Tuy nhiên, việc chiết xuất từ nguồn dược liệu tự nhiên để kiểm tra hoạt tính sinh học gặp nhiều khó khăn do lượng mẫu thử hạn chế và quá trình tổng hợp hoàn toàn các chất đó đòi hỏi thời gian lâu dài. Để giải quyết vấn đề này, phương pháp *in silico* đã được sử dụng ở quy mô tương tác phân tử, giúp tiết kiệm thời gian, công sức và tài chính. Phương pháp này cùng với việc phân tích dữ liệu cho phép dự đoán các cấu trúc có tác dụng, dung môi và bộ phận chứa nhiều chất tiềm năng, mang lại những thông tin quan trọng cho các nhà nghiên cứu dược liệu và hoá dược.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cấu trúc của các chất hoá học trong cây Ngân hoa (*G. robusta*) được thu thập từ các bài báo khoa học.

Cấu trúc tinh thể FtsZ của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* được sử dụng cần thoả mãn các tiêu chí sau: i) độ phân giải tốt, bé hơn 3 Å, ii) giá trị R thấp iii) gắn kết với phối tử, iv) năm xuất hiện của các cấu trúc gần thời điểm hiện tại v) bài báo mô tả chi tiết cấu trúc tinh thể. Cấu trúc tinh thể 5MN6, 5MN7, 5MN8 bị loại do độ phân giải thấp. Cấu trúc 5MN4, 5MN5 bị loại do không gắn kết phối tử benzamid. Như vậy, còn lại các cấu trúc 4DXD, 6KVP, 6KVQ, 6YD1, 6YD5, 6YD6. Cấu trúc 4DXD xuất hiện vào năm 2012 và đã được nghiên cứu nhiều trong các tài liệu, gắn kết với phối tử 9PC (PC190723), không có sự xuất hiện của phối tử ion kiềm và kiềm thổ. Các phối tử xuất hiện gần đây có độ phân giải khá tốt, xuất hiện các ion Ca, K chưa được nhiều nghiên cứu thực hiện. Dựa vào cân nhắc các tiêu chí trên, 6YD5 được lựa chọn để thực hiện docking. Cấu trúc 6YD5 gồm có GDP (guanosine-5'-diphosphat), phối tử OM8 (3-[(3-chlorophenyl)methoxy]-2,6-bis(fluoranyl)benzamid), MB3 (1-methylpyrrolidin-2-on), EDO (1,2-ethanediol) và K.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xây dựng dữ liệu chất chuyển hoá

Cấu trúc hóa học của các hợp chất có trong cây Ngân hoa (*G. robusta*) được tìm kiếm trên các thư viện tài liệu lớn của thế giới như Pubmed, Researchgate... Các bài báo đó phải có chứa tên và cấu trúc hoá học của các chất đã được chiết xuất và xác định cấu trúc bằng phổ NMR, IR, sau đó được đối chiếu với thư viện Pubchem. Trong các bài báo, một số trường hợp đặc biệt thì sẽ có ký hiệu riêng. Cụ thể, ký hiệu a dành cho các chất được nêu tên trong bài báo nhưng không được đánh số, bài báo không có công thức nhưng có thể tìm được trong Pubchem. Ký hiệu b đối với các chất mà có sự khác nhau giữa công thức trong bài báo và trong Pubchem, chất đó được lấy công thức theo Pubchem. Ký hiệu c dành cho các chất không có công thức nhưng có tên và được đánh số trong bài báo. Các chất hoá học này được vẽ bằng phần mềm ChemDraw, đặt tên và lưu dưới dạng file *.cdxml. Tiếp theo, các phân tử này được lưu dưới 1 file *.sdf. Ngoài ra, một bảng được lập ra là lưu lại dưới dạng file *.csv gồm tên hoá học, mã khóa (mã trong bài báo khoa học), tên dược liệu, bộ phận chiết xuất, phân đoạn dung môi chiết xuất chủ yếu, tên bài báo khoa học, ghi chú. Sau đó, các chất hoá học trùng nhau sẽ được lọc và loại bỏ khỏi bảng, chỉ để lại những chất duy nhất không bị trùng lắp. Dữ liệu dạng bảng này sẽ được phân tích bằng ngôn ngữ lập trình Python.

Docking phân tử

Cấu trúc tinh thể của FtsZ từ *S. aureus* được lấy từ Ngân hàng Dữ liệu Protein (RCSB) với mã PDB 6YD5. Cấu trúc protein được chuẩn bị bằng MOE 2019.102 (Chemical Computing Group). Cấu trúc tinh thể được xoá nước, các phối tử GDP, MB3, EDO, còn giữ lại OM8 và K. Sau đó, cấu trúc được proton hóa, tính điện tích riêng phần, tối ưu hóa hình học, tối thiểu hóa năng lượng. Phối tử được chuẩn bị trong phần mềm Sybyl 2.0.0.11273 (Tripos – Cetera) gồm: tối thiểu hóa năng lượng lần 1, chạy động học phân tử, tối thiểu hóa năng lượng lần 2. Việc chuẩn bị khoang gắn kết và docking được tiến hành trong phần mềm LeadIT 2.1.8 (BioSolveIT GmbH). Để đánh giá quy trình docking, phối tử đồng kết tinh đã được docking lại và căn bậc hai trung bình bình phương độ lệch (RMSD) của phối tử được tính toán.

Xử lý và phân tích dữ liệu

Dữ liệu sau khi thu thập (dữ liệu thô) cùng với dữ liệu sau khi lọc và docking được xử lý cũng như phân tích với ngôn ngữ lập trình Python 3.9.13 trong trình biên tập mã Visual Studio Code 1.84.0 (Microsoft). File dữ liệu đầu vào là *.csv và file dữ liệu đầu ra là *.csv, *.png. Thư viện pandas 1.5.3 được sử dụng để khám phá, làm sạch, sắp xếp lại và phân tích dữ liệu. Các phương

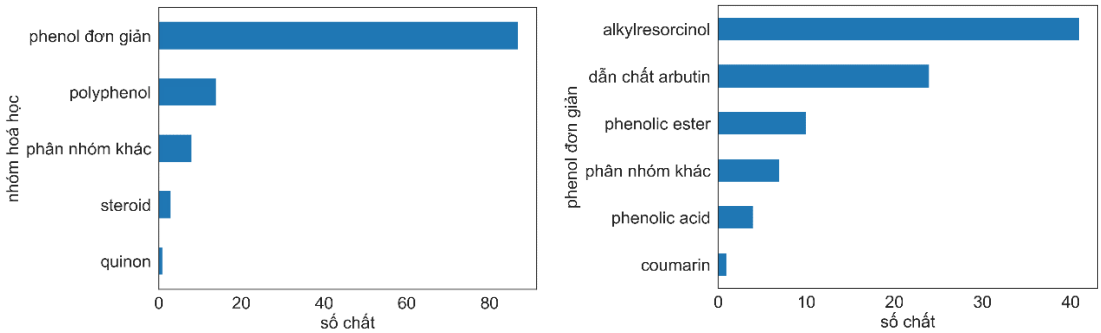
thức để sắp xếp dữ liệu gồm có crosstab, groupby, pivot_table. Matplotlib là một thư viện trực quan hóa trong Python dành cho các biểu đồ 2D, xây dựng trên mảng NumPy. Seaborn được xây dựng dựa trên matplotlib và tích hợp chặt chẽ với cấu trúc dữ liệu của Pandas. Thư viện Seaborn 0.12.2 dùng để vẽ biểu đồ barplot, stripplot, heatmap. Thư viện Matplotlib 3.7.0 được sử dụng để chỉnh sửa nhãn các trục toạ độ, điều chỉnh lại kích cỡ chữ.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mô tả dữ liệu thô chất chuyển hoá

Tổng cộng 125 chất chuyển hoá trong cây Ngân hoa được thu thập từ 9 bài báo, trải dài từ năm 2000 đến năm 2021 [2], [4], [5], [10]-[15]. Trong số đó, 20 chất ký hiệu a, 3 chất ký hiệu b, 17 chất ký hiệu c, 1 chất bài báo không nêu tên nhưng có cấu trúc hoá học, 12 chất không có và không tìm thấy công thức cấu tạo. Bốn bộ phận được sử dụng để phân lập các chất là vỏ cây, lá, hoa và rễ cây. Lá là bộ phận phân lập được số lượng chất vượt trội là 93 chất. Ba bộ phận vỏ cây, hoa, rễ cây có số lượng chất phân lập được lần lượt là 9, 8, 15 chất.

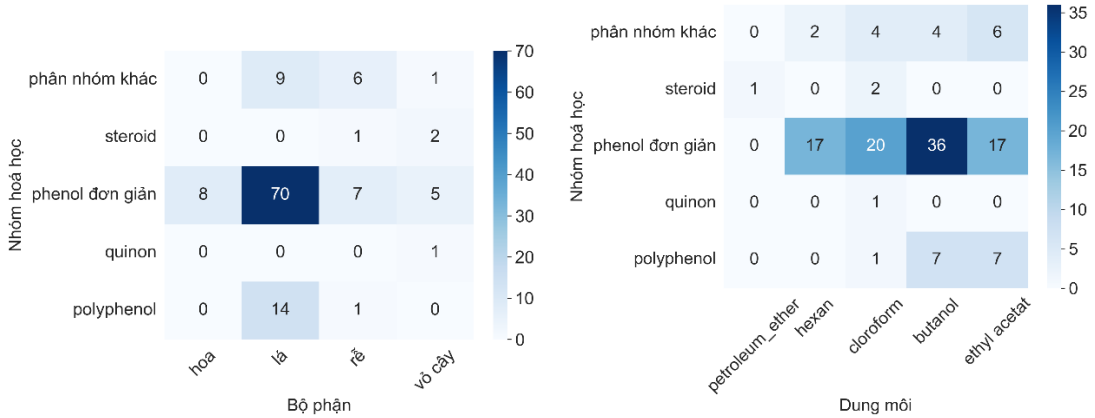
Năm nhóm hoá học được tìm thấy trong các chất phân lập được từ cây Ngân hoa (minh hoạ trong Hình 1). Đó là phenol đơn giản, polyphenol, nhóm khác, steroid và quinon. Trong đó, phenol đơn giản chiếm số lượng nhiều nhất với 89 chất. Nhóm polyphenol có chứa 15 chất. Ngoài ra, 2 nhóm steroid và quinon chỉ xác định được số lượng rất ít với 3 và 1 chất tương ứng trong mỗi nhóm. Nhóm phenol đơn giản gồm những phân nhóm nhỏ hơn: resorcinol và dẫn chất alkylresorcinol, arbutin và dẫn chất, phenolic ester, phenolic acid, coumarin, phân nhóm khác. Alkylresorcinol chiếm số lượng lớn nhất với 43 chất, tiếp sau đó là dẫn chất arbutin với 24 chất. Polyphenol gồm có 1 lignan và 14 flavonoid. Flavonoid gồm có 2 phân nhóm nhỏ hơn là flavanon và flavonol.



Hình 1. *Các nhóm hoá học từ dữ liệu thu thập được và phân nhóm của phenol đơn giản*

Bốn bộ phận khác nhau của cây Ngân hoa chứa các nhóm hóa học được phân lập được minh hoạ trong Hình 2. Lá là bộ phận phân lập được số lượng chất nhiều nhất 93 chất, chủ yếu chứa 84 phenol (gồm 70 phenol đơn giản và 14 polyphenol). Vỏ cây chứa 4 nhóm gồm phenol đơn giản, quinon, steroid và nhóm khác. Hoa, rễ chủ yếu chứa các chất phenol đơn giản. Phenol đơn giản là nhóm chất được phân lập từ cả 4 bộ phận là vỏ cây, hoa, lá và rễ cây. Polyphenol tập trung chủ yếu ở lá cây.

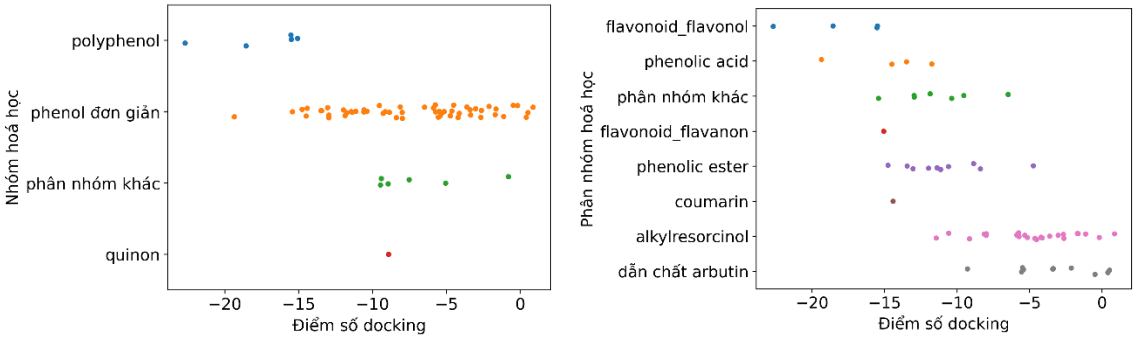
Năm dung môi được dùng để phân lập các chất (pertroleum ether, n-hexan, cloroform, n-butanol, ethyl acetat) và 4 nhóm hoá học khác nhau của cây Ngân hoa được chỉ ra trong Hình 2. Phenol đơn giản là nhóm hoá học sử dụng nhiều loại dung môi nhất với 4 dung môi n-butanol, cloroform, ethyl acetat, hexan. Polyphenol chủ yếu dùng butanol và ethyl acetat để chiết xuất. Ngoài ra, petroleum ether chỉ chiết được 1 chất thuộc nhóm steroid. Cloroform còn dùng để chiết xuất steroid và quinon.



Hình 2. *Mối liên quan giữa nhóm hóa học và bộ phận chiết xuất (trái), dung môi (phải)*

3.2. Phân tích dữ liệu sau khi docking

Từ 125 chất sưu tầm, 22 chất bị loại bỏ do trùng lắp, còn lại 103 chất với cấu trúc khác nhau được đưa vào quá trình docking. Điểm số docking của phối tử đồng kết tinh là -25,9 kJ/mol và giá trị RMSD 0,63 Å, đạt yêu cầu. Sau khi thực hiện docking, 68 chất docking được, 35 chất thông báo không docking được. Quercetin là một flavonoid cho điểm số docking thấp nhất -22,7 kJ/mol trong tất cả các chất. 3 chất robustasid D, grevillosid L, grevillosid E methyl ester cho điểm số docking dương (0,4; 0,5 và 0,9 kJ/mol). Điểm số docking trung bình của cả 68 chất này là -8,1 kJ/mol.

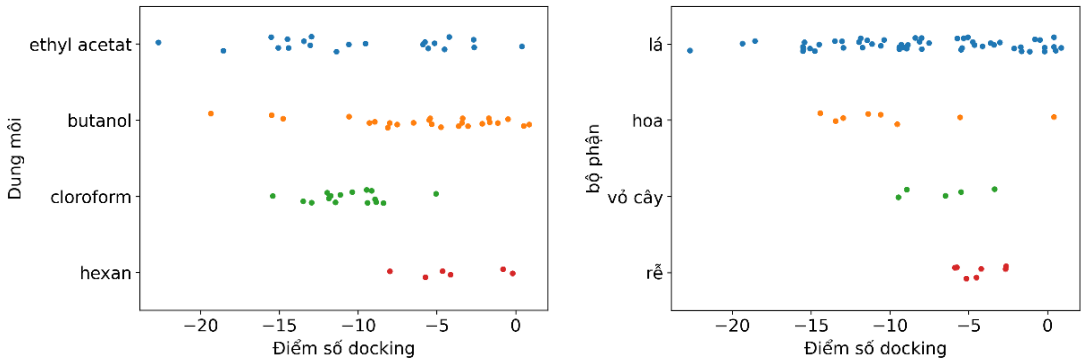


Hình 3. *Điểm số docking theo nhóm hoá học (trái) và các phân nhóm nhỏ của phenol (phải)*

Nhóm có điểm số docking đáng chú ý trong 68 chất là phenol (Hình 3), gồm polyphenol và phenol đơn giản. Nhóm polyphenol có chứa 5 chất có điểm số docking trải dài từ -22,7 đến -15,1 kJ/mol, trung bình -17,5 kJ/mol. Phân nhóm flavonol có 4 chất (quercetin, kaempferol, rhamnetin, rhamnocitrin) điểm số docking trung bình là -18,1 kJ/mol, kéo dài từ queretin -22,7 kJ/mol đến rhamnocitrin -15,5 kJ/mol. Phân nhóm flavanon có 1 chất là eriodicytol-7-methyl ether với điểm số docking là -15,1 kJ/mol. Nhóm phenol đơn giản có điểm số docking trải rộng nhất từ -18,4 đến 0,9 kJ/mol, trung bình -7,4 kJ/mol. 2 phân nhóm có điểm số docking đáng chú ý là phenolic acid và phân nhóm khác. Phân nhóm phenolic acid gồm 4 chất là acid (E)-2,5-dihydroxycinnamic, acid p-coumaric, acid cinnamic, acid p-hydroxybenzoic với điểm số docking từ -19,4 đến -11,7 kJ/mol. Phân nhóm khác trong phenol đơn giản gồm các chất p-nitrophenol, p-hydroxy benzaldehyd, 4-hydroxybenzaldehyd, hydroquinon, 4-hydroxyacetophenon, dhurrin, 4-hydroxyphenethyl alcohol 8-O-β-apiofuranosyl (1"—>2')-β-glucopyranosid có điểm số docking từ -15,4 đến -6,5 kJ/mol. Điểm số của phân nhóm phenolic ester từ -14,8 đến -4,7 kJ/mol, với các chất có điểm số thấp nhất trong phân nhóm này là (E)-2,5-dihydroxycinnamic acid ester của D-glucose (-14,8 kJ/mol), 3,5-dihyroxy cinnamat (-13,4 kJ/mol), methyl 2,5-dihydroxycinnamat (-13,0 kJ/mol) đều là các dẫn chất ester của acid cinnamic. Phân nhóm coumarin có 1 chất là 6-

hydroxy coumarin (-14,4 kJ/mol). Hai phân nhóm còn lại là resorcinol và alkylresorcinol, arbutin và dẫn chất arbutin có điểm số docking cao hơn so với các phân nhóm khác trong nhóm phenol đơn giản. Alkylresorcinol có chứa 24 chất với điểm số trung bình là -4,9 kJ/mol, kéo dài từ grevirobstol A (-11,4 kJ/mol) đến grevillosid E methyl ester (0,9 kJ/mol). Nhóm quinon có 1 chất là 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinon với điểm số -8,9 kJ/mol. Nhóm khác không có cấu trúc phenol, quinon có 6 chất là 4-(1-hydroxy ethyl) anisol, graviquinon, icarisid D2, p-hydroxybenzoic acid glucosid, itaconic acid 4-methyl ester, cis-3-hydroxy-5-pentadecylcyclohexanon đều có điểm số docking cao hơn -10 kJ/mol. Dựa vào biểu đồ, những chất có điểm số docking bé hơn -10 kJ/mol thuộc các nhóm phenol, với các phân nhóm nhỏ như flavonoid (gồm flavonol và flavanon), phenolic acid, phenolic ester, phân nhóm khác có cấu trúc phenol đơn giản và coumarin.

Dung môi cloroform, ethyl acetat là dung môi chứa nhiều cấu trúc tiềm năng (Hình 4). Cụ thể hơn, ethyl acetat có chứa 21 chất với điểm số docking trung bình là -9,9 kJ/mol, trải dài từ -22,7 đến -0,4 kJ/mol, tập trung chủ yếu từ -15 đến -10 kJ/mol cũng như xung quanh -5 kJ/mol. Ethyl acetat chứa chất có điểm số docking thấp nhất là quercetin (-22,7 kJ/mol), kaempferol (-18,6 kJ/mol). Cloroform có chứa 16 chất với điểm số docking trung bình -10,6 kJ/mol, trải dài từ -15,5 đến -5 kJ/mol, tập trung chủ yếu từ -15 đến -10 kJ/mol. Cloroform có chứa 2 chất có điểm số docking thấp nhất là p-nitrophenol (-15,4 kJ/mol) và acid cinnamic (-13,5 kJ/mol). Dung môi butanol có chứa 24 chất, điểm số docking trung bình chỉ có -5,9 kJ/mol, trải dài từ -19,3 đến 0,9 kJ/mol, chủ yếu tập trung các chất có điểm số docking lớn hơn -10kJ/mol. Các chất có điểm số docking thấp nhất trong dung môi này là acid (E)-2,5-dihydroxycinnamic (-19,3 kJ/mol) và rhamnocitrin (-15,9 kJ/mol). Dung môi còn lại hexan chứa 4 dẫn chất alkylresorcinol gồm (bisgravillol, 5-[14'-(3",5"-dihydroxyphenyl)-cis-tetradec-6'-en-1'-yl]benzene-1,3-diol; cis-5-n-pentadecylresorcinol; dehydrobisgravillol; bis-norstriatol và 1 chất không có cấu trúc alkylresorcinol cis-3-hydroxy-5-pentadecylcyclohexanon đều có điểm số docking lớn hơn -10 kJ/mol.

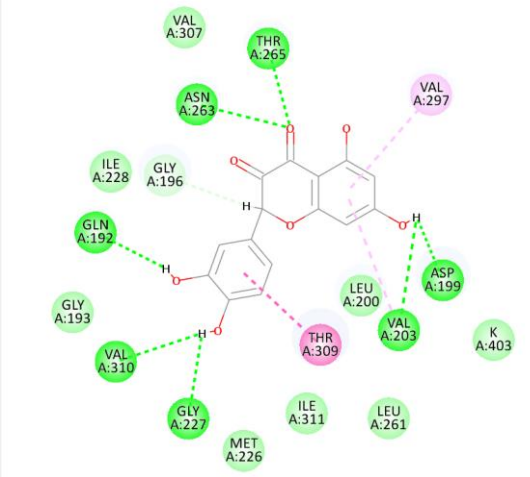


Hình 4. *Biểu đồ điểm số docking theo dung môi (trái) và bộ phận chiết xuất (phải)*

Điểm số docking của 76 cấu trúc (bao gồm cả các cấu trúc trùng nhau nhưng chiết xuất ở các bộ phận khác nhau) được phân chia theo bộ phận chiết xuất được minh hoạ trong Hình 4. Hoa, lá có điểm số docking trung bình lần lượt là -9,7 và -8,2 kJ/mol. Hoa có 8 phenol đơn giản, trong đó 6-hydroxy coumarin (-14.4 kJ/mol); 3,5-dihyroxy cinnamat (-13,4 kJ/mol) có điểm số docking thấp nhất. Lá có 56 chất, trong đó quercetin (-22,7 kJ/mol); acid (E)-2,5-dihydroxycinnamic (-19,3 kJ/mol); kaempferol (-18,5 kJ/mol) cho điểm số docking thấp nhất và thấp hơn cả 6-hydroxy coumarin. Vỏ cây và rễ có tương ứng 5 và 7 chất với điểm số docking trung bình là -6,7 và -4,4 kJ/mol. Trong vỏ cây, 4-(1-hydroxy ethyl) anisol cho điểm số thấp nhất (-9,6 kJ/mol). Trong rễ cây, 1,3-dihydroxy-5-undecylbenzen có điểm số docking thấp nhất (-5.9 kJ/mol). Dựa vào biểu đồ, những chất có điểm số docking lớn hơn -10 kJ/mol đều nằm ở rễ cây và vỏ cây.

Mô thức gắn kết của quercetin và FtsZ (Hình 5) gồm có liên kết hydro, pi-alkyl, amid-pi chồng phủ, carbon hydro. Liên kết hydro giữa quercetin và Asn263, Thr265, Asp199, Val203,

Gly227, Val310, Gln192. Liên kết pi-alkyl của benzen vòng A trong chromon với Val203, Val297. Liên kết amid-pi chồng phủ của phenyl vòng B với Thr309. Liên kết carbon hydro giữa Gly196 và pyron vòng C.



Hình 5. *Mô thức gắn kết của quercetin và FtsZ*

3.3. Bàn luận

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng các hợp chất phenol có tác dụng kháng FtsZ. Sulfoalkylresorcinol ức chế hoạt động GTPase của FtsZ trên in vitro và thể hiện hoạt tính kháng khuẩn chống lại các mầm bệnh khác nhau nhưng không gây độc tế bào đối với tế bào A549 của con người [16]. Cụ thể, sulfoalkylresorcinol mới từ nấm có nguồn gốc từ biển, *Zygosporium*. Sulfoalkylresorcinol ức chế hoạt tính GTPase của FtsZ tới 50% ở nồng độ 25 mg/ml và ức chế gần như hoàn toàn quá trình trùng hợp FtsZ ở nồng độ này. Sulfoalkylresorcinol cũng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn nhẹ chống lại *Mycobcterium tuberium* (MDR-TB), *M. bovis* BCG, *M. avium*, *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) và *Staphylococcus aureus* (MRSA) với các giá trị MIC tương ứng là 166, 166, 166, 50, và 12,5 mg/ml, nhưng không biểu hiện độc tính tế bào đối với A549 ở liều lên tới 200 mg/ml [17]. Coumarin có hoạt tính kháng khuẩn đáng kể đối với *M. tuberculosis* H37Rv bằng cách ngăn chặn phản ứng trùng hợp FtsZ và hoạt động của GTPase. Coumarin nhắm mục tiêu FtsZ trong *M. tuberculosis* gây bệnh lao, có thể đóng vai trò là một loại thuốc đầy tiềm năng để điều trị bệnh lao [16]. Scopoletin là một chất tương tự coumarin liên quan đến esculetin và quercetin, ức chế hoạt động GTPase và quá trình trùng hợp của FtsZ [16]. Trong các nghiên cứu *in silico* sàng lọc các hợp chất tự nhiên có nguồn gốc thực vật cho thấy cinnamaldehyd và quercetin là chất ức chế tốt nhất FtsZ từ *Salmonella Typhi*. Cinnamaldehyd ngăn chặn quá trình trùng hợp stFtsZ và ức chế hoạt động của FtsZ GTPase tới 70% [18]. Acid cinnamic có thể được coi là một phân tử khởi đầu tiềm năng, để phát triển hợp chất kháng khuẩn mới, vì nó ức chế quá trình trùng hợp FtsZ và có cấu trúc liên quan đến cinnamaldehyd [19]. Curcumin là một hợp chất polyphenol phân lập từ *Curcuma longa*, có hoạt tính kháng khuẩn đối với *B. subtilis* và *E. coli* với MIC (nồng độ ức chế tối thiểu) khoảng 100 µM. Curcumin có thể liên kết với FtsZ ở *B. subtilis*, phá vỡ tính ổn định của polyme FtsZ, đồng thời ức chế quá trình lắp ráp FtsZ ở *B. subtilis* và hình thành vòng Z [9], [20].

Nghiên cứu này cho thấy các hợp chất phenolic (flavonoid, phenolic acid, phenolic ester, phân nhóm khác có cấu trúc phenol đơn giản và coumarin) là những hợp chất tiềm năng chống vi khuẩn theo cơ chế kháng FtsZ. Các flavonoid gồm 4 flavonol (quercetin, kaempferol, rhamnetin, rhamnocitrin) và 1 flavanon eriodicytol-7-methyl ether có điểm số docking thấp nhất. Điều này tương đồng với nghiên cứu của Farah Naz và cộng sự thực hiện năm 2022 chỉ ra quercetin là chất ức chế tiềm năng của FtsZ từ *Salmonella Typhi* (stFtsZ) [18]. Ngoài ra dẫn chất coumarin như 6-

hydroxy coumarin… cũng có thể có khả năng kháng FtsZ tương đồng với coumarin và scopoletin [16]. Các phenolic acid bao gồm acid (E)-2,5-dihydroxycinnamic, acid cinnamic, acid p-coumaric có cấu trúc từ acid cinnamic. Các phenolic ester như (E)-2,5-dihydroxycinnamic acid ester của D-glucose; 3,5-dihyroxy cinnamat, methyl 2,5-dihydroxycinnamat; methyl 5-ethoxy-2-hydroxycinnamat đều là dẫn chất ester của acid cinnamic nên có thể cho tác dụng tương tự acid cinnamic như Neerja Rastogi và cộng sự đã nêu ra [19]. Nghiên cứu này chỉ ra rằng điểm số docking của phân nhóm dẫn chất alkylresorcinol cao hơn các phân nhóm khác. Tuy nhiên, alkylresorcinol lại là nhóm có số lượng chất lớn nhất, có cấu trúc gần giống sulfoalkylresorcinol phân lập từ nấm *Zygosporium* có khả năng kháng FtsZ [16], [17].

Dữ liệu thô cho thấy lá có chứa rất nhiều polyphenol và phenolic đơn giản hơn so với hoa, đồng thời chứa nhiều chất có điểm số docking thấp hơn so với hoa. Nghiên cứu này cũng cho kết quả tương đồng với nghiên cứu *in vitro* của Ian Edwin Cock và cộng sự chỉ ra chất chiết xuất methanol từ lá có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn chất chiết xuất từ hoa [7]. Nghiên cứu cũng đã chỉ ra phân đoạn dung môi cloroform và ethylacetat chứa đa dạng cấu trúc phenol với những cấu trúc có điểm số docking thấp. Md Sharif Ullah và cộng sự đã chỉ ra trong 4 phân đoạn hexan, carbon tetrachlorid, chloroform và nước chỉ có các phân đoạn dung môi carbon tetrachlorid và chloroform thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt [6].

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thu thập được dữ liệu các chất chuyển hoá trong cây Ngân hoa, thực hiện việc docking và tiến hành phân tích dữ liệu thô cũng như dữ liệu sau khi docking. Ngân hoa chứa chủ yếu phenol. Các phenolic đơn giản có cấu trúc phong phú nhiều nhất là các alkylresorcinol và dẫn chất arbutin. Polyphenol gồm có các flavonoid và lignan. Nghiên cứu này cho thấy các hợp chất phenolic đơn giản (phenolic acid, phenolic ester, phân nhóm khác có cấu trúc phenol đơn giản và coumarin) cũng như polyphenol (flavonoid) là những hợp chất tiềm năng chống vi khuẩn theo cơ chế kháng FtsZ. Phân đoạn ethyl acetat, cloroform có chứa các nhóm hoá học phenol là phân đoạn có thể cho tác dụng ức chế FtsZ tốt. Nên sử dụng lá, hoa để chiết xuất vì có chứa nhiều các chất phenol. Các nghiên cứu *in vitro* về chiết xuất, làm giàu hoạt chất và thử tác dụng sinh học cần được tiến hành thêm để khẳng định lại hoạt tính kháng khuẩn theo cơ chế ức chế FtsZ của cây Ngân hoa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

[1] V. M. Tran, *Handbook of trees and ornamental flowers grown on campus*, The Ho Chi Minh City Department of Agriculture and Rural Development, 2011.

[2] A. S. Ahmed, N. Nakamura, M. R. Meselhy, M. A. Makhboul, N. El-Emary, and M. Hattori, "Phenolic constituents from Grevillea robusta," *Phytochemistry*, vol. 53, no. 1, pp. 149-54, Jan 2000, doi: 10.1016/s0031-9422(99)00484-7.

[3] S. D. Wei, Y. M. Lin, M. M. Liao, W. M. Chai, and H. Zhou, "Structural Composition and Free Radical Scavenging Activity of Proanthocyanidins Extracted from Grevillea robusta," *Records of Natural Products*, vol. 6, pp. 218-229, 2012.

[4] A. Ahmed and M. A. Makboul, "Chemical investigation of Grevillea robusta A.Cunn flowers," *Sphinx Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 1-8, 2021, doi: 10.21608/sjpms.2021.95637.1000.

[5] K.-W. Wang, T.-T. Zhang, and L. Zhang, "Chemical Constituents and Biological Activities of Grevillea robusta," *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 54, 2018, doi: 10.1007/s10600-018-2279-1.

[6] M. Ullah, M. A. A. Sikder, T. Sharmin, and M. Rashid, "Pharmacological Activities of Grevillea robusta, a Medicinal Plant of Bangladesh," *Bangladesh Phramaceutical Journa*, vol. 17, pp. 135-137, 2014, doi: 10.3329/bpj.v17i2.22329.

[7] I. E. Cock, "Grevillea juncifolia Hook. and Grevillea robusta A. Cunn. Ex. R. Br. Methanolic Leaf and Flower Extracts Inhibit the Growth of Gram Positive and Gram Negative Bacteria," *Pharmacognosy Communications*, vol. 9, pp. 112-117, 2019, doi: 10.5530/pc.2019.3.23.

[8] X. H. T. Hoang and T. H. Nguyen, "Screening of potential inhibitor for FtsZ GTPase activity from plants collected in central of Viet Nam," *Journal of Medicine and Pharmacy*, pp. 11-16, 2019, doi: 10.34071/jmp.2019.3.2.

[9] H. Han *et al.*, "Recent progress of bacterial FtsZ inhibitors with a focus on peptides," *The FEBS Journal*, vol. 288, 2020, doi: 10.1111/febs.15489.

[10] Y. Yamashita, K. Matsunami, H. Otsuka, T. Shinzato, and Y. Takeda, "5-Alkylresorcinol glucosides from the leaves of Grevillea robusta Allan Cunningham," *J. Nat. Med.*, vol. 64, no. 4, pp. 474-477, Oct. 2010, doi: 10.1007/s11418-010-0420-y.

[11] T.-H. Chuang, H.-H. Chan, T.-S. Wu, and C.-F. Li, "Chemical constituents and biological studies of the leaves of Grevillea robusta," *Molecules*, vol. 16, no. 11, pp. 9331-9339, 2011, doi: 10.3390/molecules16119331.

[12] Y. Yamashita, K. Matsunami, H. Otsuka, T. Shinzato, and Y. Takeda, "Grevillosides A–F: Glucosides of 5-alkylresorcinol derivatives from leaves of Grevillea robusta," *Phytochemistry*, vol. 69, no. 15, pp. 2749-2752, 2008, doi: 10.1016/j.phytochem.2008.08.008.

[13] Y. Yamashita-Higuchi, S. Sugimoto, K. Matsunami, H. Otsuka, and T. Nakai, "Grevillosides J-Q, arbutin derivatives from the leaves of Grevillea robusta and their melanogenesis inhibitory activity," *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, vol. 62, no. 4, pp. 364-372, 2014, doi: 10.1248/cpb.c13-00962.

[14] A. Ahmed, "Phytochemical and biological study of Grevillea robusta A. Cunn cultivated in Egypt," *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, vol. 29, pp. 272-288, 2006, doi: 10.21608/bfsa.2006.65200.

[15] Y. Yamashita-Higuchi, S. Sugimoto, K. Matsunami, and H. Otsuka, "Reinvestigation of structures of robustasides B and C, and isolation of (E)-2,5-dihydroxycinnamic acid esters of arbutin and glucose from the leaves of Grevillea robusta," *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, vol. 60, no. 10, pp. 1347-1350, 2012, doi: 10.1248/cpb.c12-00549.

[16] K. A. Hurley, T. M. A. Santos, G. M. Nepomuceno, V. Huynh, J. T. Shaw, and D. B. Weibel, "Targeting the Bacterial Division Protein FtsZ," *J. Med. Chem.*, vol. 59, no. 15, pp. 6975-6998, 2016, doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01098.

[17] K. Kanoh *et al.*, "New Sulfoalkylresorcinol from Marine-derived Fungus, Zygosporium sp. KNC52," *The Journal of Antibiotics*, vol. 61, no. 3, pp. 192-194, 2008, doi: 10.1038/ja.2008.29.

[18] F. Naz *et al.*, "Screening of plant-based natural compounds as an inhibitor of FtsZ from Salmonella Typhi using the computational, biochemical and in vitro cell-based studies," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 219, pp. 428-437, 2022, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.07.241.

[19] N. Rastogi, P. Domadia, S. Shetty, and D. Dasgupta, "Screening of natural phenolic compounds for potential to inhibit bacterial cell division protein FtsZ," *Indian J. Exp. Biol.*, vol. 46, no. 11, pp. 783-787, Nov. 2008.

[20] N. Silber, C. L. Matos de Opitz, C. Mayer, and P. Sass, "Cell division protein FtsZ: from structure and mechanism to antibiotic target," *Future Microbiol.*, vol. 15, pp. 801-831, Jun. 2020, doi: 10.2217/fmb-2019-0348.