

HOẠT TÍNH KHÁNG TỤ CẦU VÀNG *Staphylococcus aureus* CỦA DỊCH CHIẾT VÀ CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ LOÀI GIÁC ĐỂ THANH LỊCH (*Goniiothalamus elegans*)

Nguyễn Nguyên Thị Diệu Linh¹, Hồ Đăng An¹, Võ Đức Huy¹, Nguyễn Di Khánh², Nguyễn Thị Phương Thảo², Nguyễn Tân Khanh³, Trần Thị Thuỳ Linh^{1*}

¹Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

²Trường Đại học Công nghệ Đồng Nai

³Trường Đại học Đông Á

*Tác giả liên hệ: Trần Thị Thuỳ Linh, ttlinh@huemed-univ.edu.vn

THÔNG TIN CHUNG

Ngày nhận bài: 30/10/2023

Ngày nhận bài sửa: 20/11/2023

Ngày duyệt đăng: 08/12/2023

TỪ KHOÁ

Goniiothalamus elegans;

Mô phỏng phân tử;

Phương pháp hoà tan;

Phương pháp khuếch tán đĩa thạch;

Staphylococcus aureus.

TÓM TẮT

Các loài thuộc chi *Goniiothalamus* được sử dụng trong Y học cổ truyền để chữa các bệnh đau nhức xương khớp, hạ sốt, điều trị mụn nhọt, ban sởi và làm lành vết thương. Ngoài ra, dịch chiết và các hợp chất phân lập từ chi này đã được báo cáo khả năng kháng khuẩn, chống sốt rét và gây độc tế bào ung thư. Tụ cầu vàng, *Staphylococcus aureus* là một vi khuẩn phổ biến gây nhiễm trùng da cũng như các vấn đề về hô hấp và tiêu chảy. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá hoạt tính chống *S. aureus* của các dịch chiết và hợp chất phân lập từ cây Giác để thanh lịch *Goniiothalamus elegans*. Kết quả cho thấy dịch chiết ethyl acetate cùng với hai alkaloid là lysicamine và liriodenine đã ức chế sự phát triển của vi khuẩn với đường kính vô khuẩn từ 9,2 - 10,5 mm. Đặc biệt, lysicamine và liriodenine có khả năng ức chế *S. aureus* đáng kể với MIC < 1,25 mg/mL. Ngoài ra, phương pháp mô phỏng tương tác phân tử được áp dụng nhằm tìm hiểu cơ chế kháng khuẩn của 2 alkaloid. Theo đó, lysicamine và liriodenine tương tác với Clumping factor A, protein đóng vai trò quan trọng trong khả năng gây bệnh và độc lực của *S. aureus* với ái lực liên kết lần lượt là -6,8 và -7,0 Kcal/mol. Đồng thời, 2 alkaloid cũng tương tác với Phosphotransacetylase, protein giữ vai trò cốt yếu trong sinh trưởng và phát triển của *S. aureus* với ái lực liên kết lần lượt là -5,4 và -5,9 Kcal/mol. Nghiên cứu là cơ sở cho việc sử dụng cây Giác để thanh lịch trong điều trị nhiễm khuẩn do Tụ cầu vàng.

1. GIỚI THIỆU

Tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*) là một loài vi khuẩn gram dương sống hội sinh hiện diện trên cơ thể của khoảng 30% dân số thế giới. Khi xâm nhập vào cơ thể vật chủ, Tụ cầu vàng là một tác nhân gây bệnh kinh điển dẫn

đến nhiều bệnh cảnh nhiễm khuẩn khác nhau như viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn, nhiễm trùng đường máu, da và mô mềm, xương khớp, phổi và màng phổi cùng một số dạng nhiễm khuẩn liên quan đến các thiết bị cấy ghép nhân tạo (Tong et al., 2015). Trong bệnh cảnh nhiễm

khuẩn, độc lực của vi khuẩn do nhiều tác nhân khác nhau gây ra, bao gồm chính bản thân chúng thông qua các protein bề mặt và các tác nhân gây bệnh liên quan đến phân tử kiểu mẫu (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), hay một số yếu tố khác như các enzyme ngoại bào cùng các độc tố và siêu kháng nguyên do vi khuẩn tiết ra. Tùy thuộc vào vị trí nhiễm khuẩn, độc lực và chủng vi khuẩn mà nhiễm khuẩn Tụ cầu vàng diễn ra từ nhẹ đến vừa, thậm chí có thể dẫn đến suy đa tạng và tử vong (Chen et al., 2022). Về cơ bản, các phác đồ điều trị hiện nay chủ yếu dựa trên liệu pháp kháng sinh, sử dụng các nhóm kháng tụ cầu như β -lactam, sulfonamide, tetracycline, glycopeptide hay phác đồ phối hợp (David & Daum, 2017; Tong et al., 2015). Tuy nhiên, trong bối cảnh tình trạng kháng kháng sinh gia tăng chóng mặt, nền y tế toàn cầu đứng trước sức ép không nhỏ trong việc tìm kiếm phác đồ kháng sinh điều trị nhiễm khuẩn hiệu quả. Trong nhiễm khuẩn *S. aureus*, nhiều phác đồ với các nhóm kháng tụ cầu kinh điển, bao gồm cả methicillin dần trở nên mất tác dụng hay giảm hiệu lực trước một số chủng *S. aureus* kháng thuốc (Ahmad & Khan, 2019; David & Daum, 2017). Trước thách thức đó, việc tìm kiếm các ứng cử viên tiềm năng để phát triển các thuốc kháng sinh mới, có hiệu lực tốt và an toàn trở nên cấp thiết hơn bao giờ hết.

Giác đế thanh lịch (*Goniothalamus elegans* Ast) thuộc họ Na (Annonaceae) được sử dụng để chữa trị các bệnh tim mạch và tiêu chảy ra máu (Chi, 2000; Suchaichit et al., 2015). Những nghiên cứu trước đây trên loài Giác đế thanh lịch còn khá hạn chế. Trong nghiên cứu công bố năm 2015, 15 hợp chất đã lần đầu tiên được phân lập trên loài này, bao gồm hợp chất mới là 6-epi-goniothalesdiol A, cùng với 9 styryl-lactone và 5 aristolactam đã biết, đa số các chất được phân lập đều thể hiện khả năng chống ký sinh trùng sốt rét và hoạt tính gây độc tế bào tốt trên các dòng tế bào ung thư biểu mô người KB, ung thư vú người MCF-7 và ung thư phổi tế bào nhỏ người NCI-H187 (Suchaichit et al., 2015). Ở những nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã phân lập 10 chất từ phần trên mặt đất của cây

Giác đế thanh lịch. Trong đó, lysicamine, liriodenine và 5-acetoxYGONIOTHALAMIN là các chất được phân lập lần đầu tiên từ loài, (23R)-21,23-epoxy-5 α -cycloart-24-en-3 β -ol lần đầu tiên được ghi nhận trong chi Giác đế và 5-cinnamoyloxygoniothalamine lần đầu tiên được phân lập từ tự nhiên. Nhiều hợp chất được công bố trên cho thấy triển vọng lớn trong điều trị ung thư với tác dụng gây độc tế bào mạnh trên các dòng tế bào ung thư ruột kết người SW-480, ung thư dạ dày người AGS, và ung thư phổi người SK-LU-1, cũng như ái lực gắn kết mạnh mẽ với một số protein như EGFR, HER-2, BRCA-1, BRCA-2 và TIGAR (Linh et al., 2022; Nguyen et al., 2023; Tran et al., 2023; Tran, Dang, et al., 2022; Tran, Pham, et al., 2022). Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá tác dụng kháng Tụ cầu vàng của các dịch chiết và hợp chất phân lập từ loài Giác đế thanh lịch. Từ đó, hướng đến việc tìm kiếm những chất kháng sinh tự nhiên tiềm năng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là cao toàn phần methanol, cao phân đoạn *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, nước và 3 hợp chất bao gồm: liriodenine (1), lysicamine (2), 9-deoxygoniopypyrone (3) được phân lập từ loài Giác đế thanh lịch *Goniothalamus elegans* thu hái tại huyện Hướng Hóa, tỉnh Quảng Trị vào tháng 5 năm 2020. Tên khoa học được xác định bởi Vũ Tiến Chính, Viện Bảo tàng Thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản có đủ cơ quan sinh dưỡng (thân, lá, rễ) và cơ quan sinh sản (hoa, quả) được lưu trữ tại Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược - Đại học Huế với số hiệu mẫu là GE-01. Quá trình chiết xuất và phân lập đã mô tả trong các nghiên cứu trước đây của chúng tôi (Linh et al., 2022; Nguyen et al., 2023; Tran et al., 2023; Tran, Dang, et al., 2022; Tran, Pham, et al., 2022).

Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (ATCC 13709) được nuôi cấy trong môi trường Mueller-Hinton Agar (MHA), Mueller-Hinton

Broth (MHB) và Trypticase Soy Broth (TBS), xuất xứ HiMedia Laboratories - Ấn Độ.

2.2. Phương pháp đánh giá khả năng kháng Tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*

2.2.1. Phương pháp đục lỗ thạch

Khả năng kháng *S. aureus* của dịch chiết và các hợp chất được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Bauer và cộng sự ((CLSI), 2012; Balouiri et al., 2016; Bauer et al., 1966). Vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MHA. Đĩa petri chứa thạch môi trường MHA được ủ trong tủ ấm trong vòng 24 - 48 giờ. Cấy trải dịch huyền phù chứa vi sinh vật kiểm định lên bề mặt thạch với nồng độ 10^8 CFU/mL. Mẫu thử được hòa tan trong DMSO 5% và pha loãng trong nước cất vô trùng đến các nồng độ khác nhau (30 mg/mL đối với các cao chiết và 10 mg/mL đối với các chất tinh khiết). Đục các giếng thạch đường kính 6 mm trên mỗi đĩa petri. Hút lần lượt vào các giếng: 50 μ L các mẫu thử, một giếng chứa 50 μ L DMSO 5% vô trùng được dùng làm đối chứng âm và một giếng chứa kháng sinh ciprofloxacin 5 μ g làm đối chứng dương. Đặt các đĩa petri vào tủ lạnh 5 - 10 giờ cho kháng sinh và dịch chiết khuếch tán, sau đó ủ ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ. Đọc và ghi nhận kết quả. Tiến hành 3 lần với mỗi thí nghiệm (Balouiri et al., 2016). Theo đó, hoạt tính kháng vi sinh vật được đánh giá bằng cách đo đường kính vòng ức chế vi sinh vật (ĐK) theo công thức ĐK (mm) = D - d, với D là đường kính vòng vô khuẩn và d là đường kính lỗ chứa mẫu thử hoạt tính hoặc khoanh giấy kháng sinh.

2.2.2. Phương pháp xác định nồng độ tối thiểu MIC

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC - Minimum Inhibitory Concentration) của các cao chiết và hợp chất phân lập được đánh giá thông qua phương pháp pha loãng đa nồng độ trong môi trường lỏng (Balouiri et al., 2016; Manandhar et al., 2019). Thử nghiệm được thực hiện trên đĩa 96 giếng. Vi khuẩn chỉ thị được hoạt hóa trong môi trường MHB đến nồng độ 10^6 CFU/mL. Hòa tan các dịch chiết và chất tinh khiết trong

DMSO 5%, pha loãng bằng nước cất vô khuẩn sao cho thu được một dãy các dung dịch có nồng độ pha loãng gấp đôi liên tiếp (15; 7,5; 3,75; 0 mg/mL đối với dịch chiết và 5; 2,5; 1,25; 0 mg/mL đối với hợp chất). Giếng đối chứng chứa 100 μ L dung dịch DMSO 5%. Đĩa 96 giếng được ủ ở 37 °C trong 24 giờ, sau đó bổ sung 20 μ L thuốc thử resazurin 0,1% vào mỗi giếng và tiếp tục ủ ở 37°C trong 30 phút. Hoạt động của vi khuẩn sẽ làm chuyển màu thuốc thử resazurin từ xanh sang hồng. Quan sát sự đổi màu, ghi nhận giá trị MIC là nồng độ thấp nhất của cao chiết hoặc hợp chất tại giếng không làm đổi màu thuốc thử.

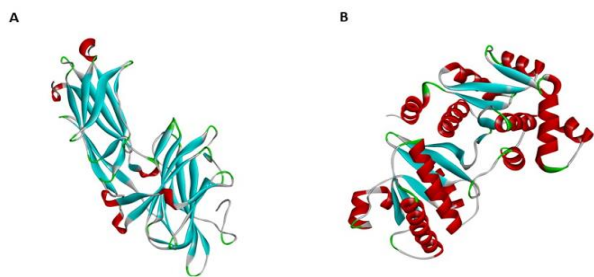
2.3. Chuẩn bị cấu trúc protein và hợp chất

Cấu trúc tinh thể của protein Clumping factor A (PDB ID: 1N67) và Phosphotransacetylase (PDB ID: 4E4R) được tải từ Thư viện cấu trúc dữ liệu tin sinh (www.rcsb.org). Cấu trúc protein sau khi được tải về ở định dạng pdb. Các phân tử nước và các hợp chất trong tinh thể được loại bỏ bằng phần mềm Discovery Studio 2020. Cấu trúc của protein được tối ưu hóa năng lượng bằng phần mềm SwissPDB (Kaplan & Littlejohn, 2001). Sau đó, tiến hành gắn thêm các phân tử hydro phân cực bằng phần mềm Autodock tool phiên bản 1.5.6 (El-Hachem et al., 2017). Trong khi đó, cấu trúc của các hợp chất được tải tại thư viện cấu trúc PubChem. Các hợp chất được áp dụng trường lực bằng phần mềm Avogadro 1.2.0. Cuối cùng, cấu trúc của protein và hợp chất được lưu dưới dạng pdbqt chuẩn bị cho quá trình mô phỏng tương tác.

2.4. Quá trình sàng lọc ảo

Quá trình sàng lọc bằng cách gắn các hợp chất tự nhiên vào các protein sử dụng phần mềm AutoDock Vina 1.1.2 (Trott & Olson, 2010). Cấu trúc protein Clumping factor A và Phosphotransacetylase được mô tả ở Hình 1. Vị trí tương tác được thiết lập với tham số center_x = 25.5, center_y = 51.5, center_z = 75.9 cho Clumping factor A, và center_x = 12.5, center_y = 18.5, center_z = 49.5, cho Phosphotransacetylase.

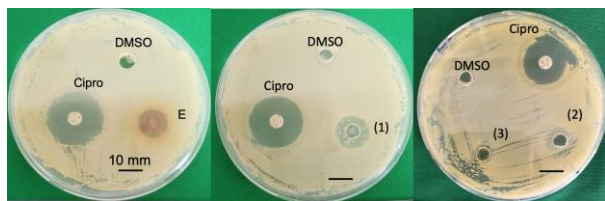
Các tham số khác được thiết lập mặc định theo phần mềm AutoDock Vina 1.1.2. Kết quả của quá trình sàng lọc được báo cáo dưới đơn vị Kcal/mol (năng lượng liên kết). Các hợp chất được xếp hạng theo thứ tự năng lượng từ mạnh đến yếu. Kết quả tương tác giữa các hợp chất với các protein Clumping factor A và Phosphotransacetylase được mô phỏng bằng phần mềm năng Studio Visualizer 2020.



Hình 1. Cấu trúc 3D của protein Clumping factor A (A) và Phosphotransacetylase (B)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khả năng kháng *S. aureus* của dịch chiết và các hợp chất phân lập từ loài *Goniothalamus elegans* được thể hiện tại Hình 2 và Bảng 1. Trong các dịch chiết, phân đoạn ethyl acetate thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* khá tốt với đường kính vô khuẩn là $9,5 \pm 0,707$ mm và giá trị MIC $< 3,75$ mg/mL ở nồng độ 50 mg/mL. Đáng chú ý, 2 hợp chất phân lập từ phân đoạn ethyl acetate là liriodenine (1) và lysicamine (2) thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* tại nồng độ 10 mg/mL, với đường kính vô khuẩn lần lượt là $10,5 \pm 0,407$ và $9,2 \pm 0,302$ mm, đồng thời giá trị MIC $< 1,25$ mg/mL. Dựa trên kết quả nghiên cứu *in vitro* thu được, gợi ý sử dụng phương pháp mô phỏng phân tử để tìm hiểu cơ chế của tác dụng kháng *S. aureus* của hai hợp chất liriodenine (1) và lysicamine (2).



Hình 2. Kết quả đường kính vô khuẩn của dịch chiết ethyl acetate (E), liriodenine (1), lysicamine (2) và 9-deoxygonioppyrone (3)

Bảng 1. Khả năng kháng *S. aureus* của dịch chiết và các hợp chất phân lập từ *G. elegans*

Tên mẫu	ĐK vòng vô khuẩn (mm)	MIC (mg/mL)
Methanol	0	$< 6,25$
Dichloromethane	0	$< 6, 25$
Ethyl acetate	$9,5 \pm 0,707$	$< 3,75$
Hexane	0	$12,5 < \text{MIC} < 25$
Nước	0	$12,5 < \text{MIC} < 25$
(1)	$10,5 \pm 0,407$	$< 1,25$
(2)	$9,2 \pm 0,302$	$< 1,25$
(3)	0	$< 6,25$

Tụ cầu vàng là một loại vi khuẩn gây bệnh phổ biến gây ra nhiều bệnh nhiễm trùng ở người, từ nhiễm trùng da nhẹ đến các tình trạng nghiêm trọng và đe dọa tính mạng. Clumping factor A (ClfA) là một protein liên quan đến vi khuẩn *S. aureus*. ClfA đóng vai trò quan trọng trong độc lực và khả năng gây bệnh của Tụ cầu vàng (Herman-Bausier et al., 2018). Vai trò chính của ClfA nằm ở khả năng điều hòa sự gắn kết ban đầu của vi khuẩn với các mô chủ, một bước thiết yếu trong quá trình lây nhiễm. Bằng cách liên kết với các protein của vật chủ, đặc biệt là fibrinogen, ClfA thúc đẩy sự bám dính, cho phép vi khuẩn tự thiết lập bên trong vật chủ. Hơn nữa, đặc tính độc đáo của ClfA là khiến các tế bào vi khuẩn kết tụ lại. Hiện tượng kết tụ này hình thành một lá chắn bảo vệ cho vi khuẩn, giúp chúng kháng cự trước các cuộc tấn công của hệ thống miễn dịch và gây khó khăn hơn cho cơ chế phòng vệ của vật chủ (Ashraf et al.,

2017). Ngoài ra, ClfA góp phần hình thành màng sinh học, giúp vi khuẩn đề kháng sự tấn công của hệ miễn dịch và gây ra hiện tượng kháng kháng sinh. Do đó, hiểu được vai trò của ClfA là điều quan trọng trong nỗ lực phát triển các chiến lược hiệu quả để điều trị nhiễm trùng *Staphylococcus aureus* ở người bệnh. Những chất ức chế gắn kết trực tiếp vào ClfA được thiết kế để ngăn chặn hoặc can thiệp vào các chức năng của ClfA, mang lại một số lợi ích tiềm năng. Bằng cách ngăn chặn sự bám dính của *S. aureus* vào các mô vật chủ, các chất này cản trở quá trình xâm nhập và gây bệnh của vi khuẩn.

Mặt khác, Phosphotransacetylase (PTA), còn được gọi là phosphate acetyltransferase hay phosphoacetylase, là một enzyme tham gia vào ba con đường trao đổi chất riêng biệt: chuyển hóa taurine và hypotaurine, chuyển hóa pyruvate và chuyển hóa propionate. PTA có thể phân cắt các ester coenzyme A (CoA) chuỗi ngắn bên cạnh acetyl-CoA, chẳng hạn như propionyl-CoA và butyryl-CoA (Breidt & Stewart, 1986). Trong xúc tác PTA, nhiều vi khuẩn, bao gồm cả *S. aureus*, sử dụng ester CoA theo những con đường cụ thể để chuyển đổi acetyl-CoA thành acetate. Acetate đóng vai trò là chất nền tăng trưởng và là sản phẩm cuối cùng trong quá trình trao đổi chất của hầu hết các vi khuẩn (Holbrook & Garneau-Tsodikova, 2016). Hơn nữa, acetate kinase được sử dụng để sản xuất ATP, cung cấp phần lớn năng lượng cho tế bào. Theo đó, việc ức chế PTA có thể ngăn ngừa hiệu quả sự phát triển và lan truyền của *S. aureus* (Morya et al., 2012).

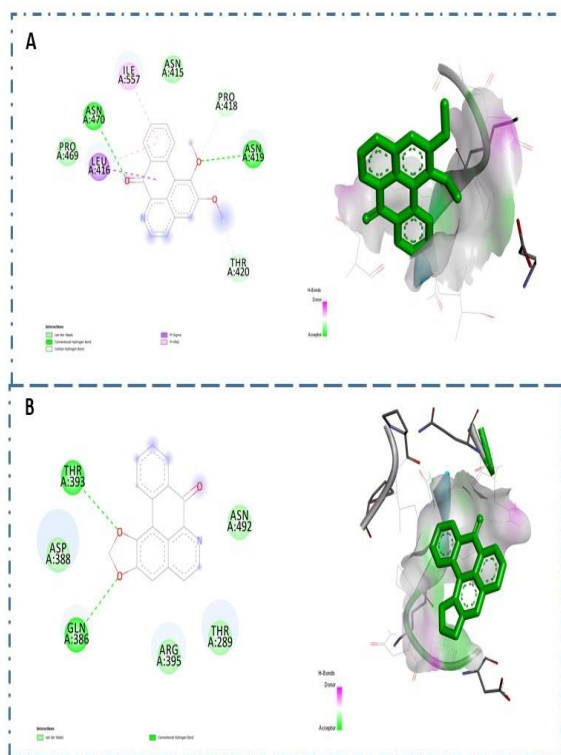
Nhằm đánh giá tác dụng kháng khuẩn của lysicamine và liriodenine, chúng tôi tiến hành mô phỏng tương tác giữa hai hợp chất này với hai protein ClfA và PTA. Cấu trúc của hai protein được thể hiện ở Hình 2.

Đối với protein Clumping factor A, lysicamine hình thành hai liên kết hydro đối với residue Asn470 và Asn419, hai liên kết hydrophobic với residue Leu416 và Ile557 với năng lượng liên kết -6,8 Kcal/mol. Trong khi đó, liriodenine hình thành hai liên kết hydro tại residue Thr393 và Gln386 với năng lượng liên kết là -7,0 Kcal/mol. Kết quả mô phỏng được thể hiện ở Hình 3 và Bảng 2.

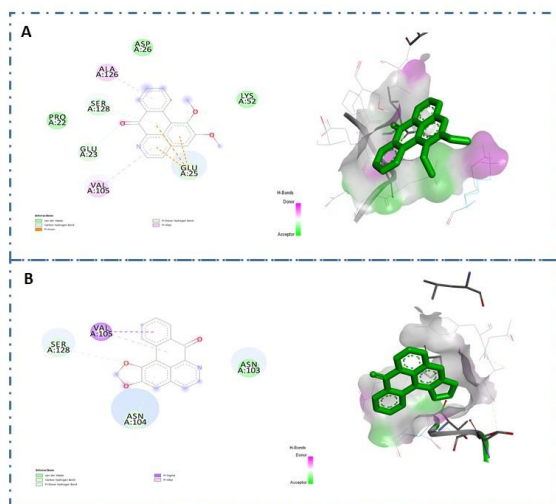
Bảng 2. Năng lượng liên kết của lysicamine và liriodenine với hai protein Clumping factor A và Phosphotransacetylase

Protein gắn kết	Tên hợp chất	Lysicamine	Liriodenine
Clumping factor A	Liên kết Hydro	Asn470, Asn419	Thr393, Gln386
	Liên kết Hydrophobic	Leu416, Ile557	
	Năng lượng liên kết (Kcal/mol)	-6,8	-7,0
Phosphotransacetylase	Liên kết Hydro	Glu25	
	Liên kết Hydrophobic	Val05, Ala126	Val105
	Năng lượng liên kết (Kcal/mol)	-5,4	-5,9

Đối với protein Phosphotransacetylase, lysicamine hình thành một liên kết hydro đối với residue Glu25, hai liên kết hydrophobic với residue Val05 và Ala126 với năng lượng liên kết -5,4 Kcal/mol. Trong khi đó, liriodenine hình thành một liên kết hydrophobic với residue Val105, với năng lượng liên kết là -5,9 Kcal/mol. Kết quả mô phỏng được thể hiện ở Hình 4 và Bảng 2.



Hình 3. Tương tác giữa Clumping factor A với các hợp chất lysicamine (A) và liriodenine (B)



Hình 4. Tương tác giữa Phosphotransacetylase với hợp chất lysicamine (A) và liriodenine (B)

Có thể nhận thấy, kết quả mô phỏng tương quan với kết quả thử nghiệm *in vitro* về khả năng ức chế sự phát triển vi khuẩn *S. aureus*.

Những nghiên cứu gần đây trên chi *Giác* đã đem đến nhiều phát hiện thú vị. Bên cạnh hoạt tính điều trị ung thư tốt, nhiều dịch chiết và hợp chất phân lập từ chi *Giác* còn có tác dụng kháng khuẩn tốt trên nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh, bao gồm cả *S. aureus* (Aslam et al., 2016; Palani et al., 2020; Trieu et al., 2021). Chẳng hạn, gracilipins C phân lập từ loài *G. gracilipes* thể hiện hoạt tính ức chế chọn lọc trên chủng *S. aureus* ATCC 25923 với giá trị MIC là 32 $\mu\text{g/mL}$, tương đồng với chúng dương streptomycin (Trieu et al., 2021). Bên cạnh đó, các dịch chiết và isoalcoholactone phân lập từ loài *G. grandiflorous* đều cho thấy hoạt tính ức chế trên các chủng vi sinh vật thử nghiệm. Đặc biệt, isoalcoholactone ở nồng độ 10 mg/mL thể hiện khả năng ức chế *S. aureus* với đường kính vô khuẩn là 12 mm (Khan et al., 1999). Ngoài ra, goniotriol từ loài *G. rongkhanus* (Funnimid et al., 2019), dịch chiết cùng tinh dầu từ các loài *Giác* khác như *G. wightii* (Palani et al., 2020), *G. cardiopetalus* (Hisham et al., 2006), *G. macrophyllus* (Humeirah et al., 2010) và *G. velutinus* (I et al., 2016) đều có hoạt tính kháng khuẩn tốt trên nhiều chủng *S. aureus* khác nhau, bao gồm cả các chủng kháng thuốc.

Ở nghiên cứu trước, chúng tôi đã phân lập được 8 hợp chất từ phân đoạn ethyl acetate, bao gồm liriodenine, lysicamine, aristolactam BII, piperolactam C, acid *trans*-cinnamic và 9-deoxygoniopypyrone (Linh et al., 2022; Nguyen et al., 2023; Tran et al., 2023; Tran, Dang, et al., 2022; Tran, Pham, et al., 2022). Tuy nhiên, lượng mẫu các hợp chất phân lập khá ít và được sử dụng để đo phổ xác định cấu trúc cũng như tiến hành nghiên cứu gây độc tế bào ung thư, do đó trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh khả năng kháng *S. aureus* trên 3 hợp chất là liriodenine (1), lysicamine (2) và 9-deoxygoniopypyrone (3).

Theo tổng quan tài liệu, liriodenine có tác dụng ức chế vượt trội trên các chủng *S. aureus* ATCC 6538 và 12600 với giá trị MIC lần lượt là 2 và 4 $\mu\text{g/mL}$, trong khi lysicamine cho thấy hoạt tính ức chế trung bình trên *S. aureus* ATCC 6538 với MIC là 25 $\mu\text{g/mL}$ (Hufford et al.,

1980). Ngoài ra, lysicamine cũng thể hiện tác dụng ức chế mạnh trên chủng *S. aureus* S1434 với đường kính vô khuẩn là $13,33 \pm 0,57$ mm, so với chứng dương Streptomycin là $13,66 \pm 0,57$ mm (Omar et al., 2013). Ở một nghiên cứu khác, lysicamine cho thấy hoạt tính tốt trên *S. aureus*, đặc biệt là các chủng *S. aureus* nhạy cảm với Methicillin (MSSA) với giá trị MIC/MBC trung bình là 20/1 $\mu\text{g/mL}$ (so với thuốc tham chiếu streptomycin với MIC/MBC trung bình là 10/1 $\mu\text{g/mL}$) (Tan et al., 2015). Các dẫn chứng trên cho thấy triển vọng của các nghiên cứu sâu hơn nhằm đánh giá hoạt tính kháng *S. aureus* cũng như làm rõ cơ chế của tác dụng này của dịch chiết và các hợp chất phân lập từ loài Giác để thanh lịch.

Như vậy, bài báo là công bố đầu tiên về hoạt tính kháng *S. aureus* của dịch chiết toàn phần methanol, các dịch chiết phân đoạn *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate và nước của loài Giác để thanh lịch. Đồng thời, nghiên cứu mô phỏng phân tử đã chứng minh tương tác giữa liriodenine, lysicamin và protein Clumping factor A, Phosphotransacetylase gợi ý cơ chế tác dụng kháng *S. aureus* của 2 alkaloid này.

4. KẾT LUẬN

Dịch chiết ethyl acetate có khả năng kháng Tụ cầu vàng *S. aureus*. Đáng chú ý, hai hợp chất liriodenine và lysicamine thể hiện hoạt tính ức chế *S. aureus* tốt với đường kính vô khuẩn lần lượt là $10,5 \pm 0,407$ và $9,2 \pm 0,302$ mm, đồng thời giá trị MIC < 1,25 mg/mL. Kết quả mô phỏng cho thấy tương tác giữa lysicamine và liriodenine với Clumping factor A, protein đóng vai trò quan trọng trong độc lực, khả năng gây bệnh của *S. aureus* có ái lực liên kết lần lượt là -6,8 và -7,0 Kcal/mol; đồng thời, 2 alkaloid này cũng tương tác với protein Phosphotransacetylase, ức chế hiệu quả sự phát triển và lan truyền vi khuẩn với ái lực liên kết lần lượt là -5,4 và -5,9 Kcal/mol. Nghiên cứu chỉ ra rằng, dịch chiết ethyl acetate của cây Giác để thanh lịch cùng 2 hợp chất liriodenine và lysicamine có tiềm năng trong nghiên cứu tìm kiếm kháng sinh từ tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- (CLSI), C. a. L. S. I. (2012). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard-eleventh edition
- Ahmad, M., & Khan, A. U. (2019). Global economic impact of antibiotic resistance: A review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 19, 313-316. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.024>
- Ashraf, S., Cheng, J., & Zhao, X. (2017). Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* interacts with AnnexinA2 on mammary epithelial cells. *Scientific Reports*, 7(1), 40608. <https://doi.org/10.1038/srep40608>
- Aslam, M., Ahmad, M. S., Mamat, A., Ahmad, M., & Salam, F. (2016). *Goniothalamus*: Phytochemical and ethnobotanical review. *Recent advances in biology and Medicine*, 2, 34-47. <https://doi.org/10.18639/RABM.2016.02.292264>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 45(4), 493-496.
- Breidt, F., Jr., & Stewart, G. C. (1986). Cloning and expression of the phospho-beta-galactosidase gene of *Staphylococcus aureus* in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 166(3), 1061-1066. <https://doi.org/10.1128/jb.166.3.1061-1066.1986>
- Chen, H., Zhang, J., He, Y., Lv, Z., Liang, Z., Chen, J., Li, P., Liu, J., Yang, H., Tao, A., & Liu, X. (2022). Exploring the role of *Staphylococcus aureus* in inflammatory diseases. *Toxins*, 14(7).
- Chi, V. V. (2000). *Dictionary of Vietnamese medicinal plants* Medicine Publisher.

- David, M. Z., & Daum, R. S. (2017). Treatment of *Staphylococcus aureus* infections. In F. Bagnoli, R. Rappuoli, & G. Grandi (Eds.), *Staphylococcus aureus: Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis* (pp. 325-383). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/82_2017_42
- El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F. H., & Nemer, G. (2017). AutoDock and AutoDockTools for protein-ligand docking: Beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) as a case study. *Methods Mol Biol*, 1598, 391-403. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6952-4_20
- Funnimid, N., Pompimon, W., & Nuntasen, N. (2019). In vitro evaluation of crude extracts and isolated compounds from *Goniothalamus rongkianus* and *Goniothalamus latestigma* for bioactive properties. *Journal of Natural Remedies*, 19(3), 146-152. <https://doi.org/10.18311/jnr/2019/23766>
- Herman-Bausier, P., Labate, C., Towell, A. M., Derclay, S., Geoghegan, J. A., & Dufrêne, Y. F. (2018). *Staphylococcus aureus* clumping factor A is a force-sensitive molecular switch that activates bacterial adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115(21), 5564-5569. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718104115>
- Hisham, A., Pathare, N., Al-Saidi, S., Jayakumar, G., Ajitha Bhai, M. D., & Harikumar, B. (2006). The composition and antimicrobial activity of stem bark essential oil of *Goniothalamus cardiopetalus* (Bl.) Hook.f. et Thoms. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4), 451-454. <https://doi.org/10.1080/10412905.2006.9699139>
- Holbrook, S. Y. L., & Garneau-Tsodikova, S. (2016). Expanding aminoglycoside resistance enzyme regiospecificity by mutation and truncation. *Biochemistry*, 55(40), 5726-5737. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b00770>
- Hufford, C. D., Sharma, A. S., & Oguntimein, B. O. (1980). Antibacterial and antifungal activity of liriodenine and related oxoaporphine alkaloids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(10), 1180-1183. <https://doi.org/10.1002/jps.2600691016>
- Humeirah, A., Mohamad Ali, N. A., Mohtar, M., Jamil, M., Saiful, A., Muhajir, H., & Puad, A. (2010). Chemical constituents and antimicrobial activity of *Goniothalamus macrophyllus* (Annonaceae) from Pasoh Forest Reserve, Malaysia. *African Journal of Biotechnology*, 9, 5511-5515.
- I, E., Kamariah, A. S., J.M, A., Lim, L., & A, N.-N. (2016). Antimicrobial, anticancer, and cytotoxicity activities of a crude methanolic extract from the bark of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) collected from Brunei Darussalam. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8, 95-103.
- Kaplan, W., & Littlejohn, T. G. (2001). Swiss-PDB Viewer (Deep View). *Briefings in Bioinformatics*, 2(2), 195-197. <https://doi.org/10.1093/bib/2.2.195>
- Khan, M. R., Komine, K., & Omoloso, A. D. (1999). Antimicrobial activity of *Goniothalamus grandiflorous*. *Pharmaceutical Biology*, 37(5), 340-342. <https://doi.org/10.1076/phbi.37.5.340.6049>
- Linh, T. T. T., Quỳnh, T. N., Huyền, T. T., Tuyền, L. B., Tuyền, N. T. M., & Khanh, N. T. (2022). Investigation of cell proliferation inhibition through protein TP53-inducible glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR) of compounds isolated from *Goniothalamus elegans* Ast. *TNU Journal of Science and Technology*, 228(01), 219-226. <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6350>
- Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J Trop Med*, 2019,

1895340.
https://doi.org/10.1155/2019/1895340
- Morya, V. K., Dewaker, V., & Kim, E. K. (2012). *In silico* study and validation of phosphotransacetylase (PTA) as a putative drug target for *Staphylococcus aureus* by homology-based modelling and virtual screening. *Appl Biochem Biotechnol*, 168(7), 1792-1805. https://doi.org/10.1007/s12010-012-9897-z
- Nguyen, T. K., Thi Tran, L. T., Truong Tan, T., Pham, P. T. V., Nguyen, L. T. K., Nguyen, H. T., Ho, D. V., & Tran, M. H. (2023). Isolation, structural elucidation, and cytotoxic activity investigation of novel styryl-lactone derivatives from *Goniothalamus elegans*: *in vitro* and *in silico* studies. *RSC Advances*, 13(26), 17587-17594.
https://doi.org/10.1039/D3RA02646A
- Omar, H., Hashim, N. M., Zajmi, A., Nordin, N., Abdelwahab, S. I., Azizan, A. H. S., Hadi, A. H. A., & Ali, H. M. (2013). Aporphine alkaloids from the leaves of *Phoebe grandis* (Nees) Mer. (Lauraceae) and their cytotoxic and antibacterial activities. *Molecules*, 18(8), 8994-9009.
https://www.mdpi.com/1420-3049/18/8/8994
- Palani, V., Shanmugasundaram, M., Maluventhen, V., Chinnaraj, S., Liu, W., Balasubramanian, B., & Arumugam, M. (2020). Phytoconstituents and their potential antimicrobial, antioxidant and mosquito larvicidal activities of *Goniothalamus wightii* Hook. F. & Thomson. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 45(6), 4541-4555.
https://doi.org/10.1007/s13369-020-04507-5
- Suchaichit, N., Kanokmedhakul, K., Panthama, N., Poopasit, K., Moosophon, P., & Kanokmedhakul, S. (2015). A 2H-tetrahydropyran derivative and bioactive constituents from the bark of *Goniothalamus elegans* Ast. *Fitoterapia*, 103, 206-212.
https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.04.005
- Tan, K. K., Khoo, T. J., Rajagopal, M., & Wiart, C. (2015). Antibacterial alkaloids from *Artabotrys crassifolius* Hook.f. & Thomson. *Natural Product Research*, 29(24), 2346-2349.
https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1013954
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-661.
https://doi.org/doi:10.1128/cmr.00134-14
- Tran, L., Nguyen, T. K., To, D., Pham, P., Tran, M. H., & Nguyen, T. (2023). Cytotoxic activity of compounds from Vietnamese *Goniothalamus elegans* Ast. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7, 3496-3501.
https://doi.org/10.26538/tjnpr/v7i7.31
- Tran, L. T. T., Dang, N. Y. T., Nguyen Le, N. T., Nguyen, H. T., Ho, D. V., Do, T. T., Tran, M. H., Nguyen, T. K., & Pham, P. T. V. (2022). *In Silico* and *in vitro* evaluation of alkaloids from *Goniothalamus elegans* Ast. for breast cancer treatment. *Natural Product Communications*, 17(3), 1934578X221088110.
https://doi.org/10.1177/1934578X221088110
- Tran, L. T. T., Pham, L.-H. D., Dang, N. Y. T., Nguyen Le, N. T., Nguyen, H. B., & Nguyen, T. K. (2022). Phytochemicals derived from *Goniothalamus elegans* Ast exhibit anticancer activity by inhibiting Epidermal growth factor receptor. *Natural Product Communications*, 17(11), 1934578X221138435.
https://doi.org/10.1177/1934578x221138435
- Trieu, Q. H., Pham, V. C., Retaillieu, P., Nguyen, V. H., Litaudon, M., & Doan, T. M. H. (2021). Rare flavonoids and sesquiterpenoids isolated from the leaves of *Goniothalamus gracilipes*. *Fitoterapia*,

155, 105034.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105034>
Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock
Vina: Improving the speed and accuracy of

docking with a new scoring function,
efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*, 31(2), 455-461.
<https://doi.org/10.1002/jcc.21334>

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES AGAINST *Staphylococcus aureus* OF EXTRACTS AND COMPOUNDS ISOLATED FROM *Goniiothalamus* *elegans*

Nguyen Nguyen Thi Dieu Linh¹, Ho Dang An¹, Vo Duc Huy¹, Nguyen Di Khanh², Nguyen Thi
Phuong Thao², Nguyen Tan Khanh³, Tran Thi Thuy Linh^{1*}

¹Hue University Medicine and Pharmacy

²Dong Nai Technology University

³Dong A University

* Corresponding author: Tran Thi Thuy Linh, tttlinh@huemed-univ.edu.vn

GENERAL INFORMATION

Received date: 30/10/2023

Revised date: 20/11/2023

Published date: 08/12/2023

KEYWORD

Goniiothalamus elegans;

Molecular simulation;

Dissolution method;

Agar plate diffusion method;

Staphylococcus aureus.

ABSTRACT

Goniiothalamus species are extensively used in traditional medicine to treat various ailments, including joint pain, fractures, fever, boils, measles, and slow-healing wounds. They have exhibited notable antibacterial and anti-malarial properties, along with significant cytotoxic activities. *Staphylococcus aureus* is a prevalent bacterium known to cause skin infections, respiratory issues, and diarrhea. In this study, we assessed extracts and compounds from *Goniiothalamus elegans* for their anti-*Staphylococcus aureus* activity. The results demonstrated that ethyl acetate extract, along with two alkaloids - lysicamine and liriodenine, effectively inhibited bacterial growth, resulting in zones of inhibition ranging from 9.2 to 10.5 mm. Particularly, lysicamine and liriodenine exhibited notable inhibition of *S. aureus* with MICs < 1.25 mg/mL. In addition, molecular docking method was used to analyze compound and protein interaction. Remarkably, lysicamine and liriodenine demonstrated interactions with Clumping factor A, a protein aiding in *S. aureus* adhesion and virulence, with binding affinities of -6.8 and -7.0 Kcal/mol, respectively. Furthermore, these two alkaloids also exhibited interactions with Phosphotransacetylase, a protein essential for the growth and dissemination of *S. aureus*, with binding affinities of -5.4 and -5.9 Kcal/mol, respectively. This research is the basis for natural treatments of *S. aureus* infections using *Goniiothalamus elegans*.