

PHÂN TÍCH *IN SILICO* GEN KHÁNG KHÁNG SINH VÀ SÀNG LỌC ẢO CHẤT ỨC CHẾ GEN KHÁNG KHÁNG SINH Ở *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

IN SILICO ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES AND SCREENING FOR INHIBITORS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Tạ Ngọc Ly*, Trần Thị Thu

Trường Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng, Đà Nẵng, Việt Nam¹

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: tnly@dut.udn.vn

(Nhận bài / Received: 17/5/2023; Sửa bài / Revised: 29/6/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 14/7/2023)

Tóm tắt - Kháng kháng sinh (KKS) là mối đe dọa sức khỏe cộng đồng và ảnh hưởng lớn đến con người. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) là tác nhân gây ra nhiều bệnh nhiễm trùng và tỉ lệ xuất hiện kháng kháng sinh ở vi khuẩn này ngày càng gia tăng. Nghiên cứu này phân tích tần số xuất hiện gen KKS ở PA, từ đó tiến hành sàng lọc chất ức chế gen KKS có tần số xuất hiện cao nhất bằng phương pháp sàng lọc ảo *in silico*. Phân tích 327 trình tự bộ gen PA cho thấy *blaPAO* là gen KKS có tần số xuất hiện cao nhất. Sử dụng *blaPAO* làm mục tiêu, quá trình sàng lọc ảo được thực hiện với 2776 hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên. Kết quả sàng lọc được ba hợp chất có tên lần lượt là Apilimod, ChEMBL1542212, TMP-195 là chất ức chế tiềm năng đối với AmpC- β -lactamase. Phân tích được động học cho thấy 3 hợp chất trên phù hợp với yêu cầu để làm thuốc vì vậy có thể được phát triển thành chất hỗ trợ điều trị KKS sau khi xác nhận bằng các nghiên cứu thực nghiệm.

Từ khóa - AmpC- β -lactamase; *blaPAO*; kháng kháng sinh; *Pseudomonas aeruginosa*; sàng lọc ảo

1. Đặt vấn đề

Pseudomonas aeruginosa là tác nhân gây ra nhiều bệnh nhiễm trùng cấp tính ở bệnh nhân nhập viện và bệnh nhân có các tình trạng dễ mắc phải như bỏng nặng, đặt ống thông tiểu hoặc giảm bạch cầu trung tính. *P. aeruginosa* là nguyên nhân chính gây viêm phổi mắc phải tại bệnh viện và thở máy, gây nhiễm trùng mắt nặng và nhiễm trùng mãn tính ở bệnh nhân xơ nang hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, gây nhiễm trùng máu, nhiễm trùng đường tiết niệu và nhiễm khuẩn huyết [1]. Nhiễm *P. aeruginosa* thường liên quan đến tỷ lệ tử vong và tỷ lệ mắc bệnh cao hơn so với nhiễm các mầm bệnh khác. Vấn đề chính dẫn đến tỷ lệ tử vong cao nằm ở sự xuất hiện của các chủng kháng thuốc. Nhiễm *P. aeruginosa* cấp tính là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở nạn nhân bỏng. Trong một nghiên cứu trên 5000 bệnh nhân trong hơn 20 năm, 55% trường hợp tử vong của nạn nhân bỏng là do *P. aeruginosa* đa kháng thuốc [2].

Kháng sinh nhóm β -lactam bao gồm penicillin, carbapenem, monobactam và cephalosporin đóng vai trò chính trong điều trị nhiễm *P. aeruginosa*. Tuy nhiên, một số lượng đáng kể các chủng vi khuẩn này kháng lại β -lactam làm phức tạp quá trình điều trị nhiễm trùng và ảnh hưởng xấu đến kết quả điều trị. Trong một phân tích tổng hợp của 23 nghiên cứu về hơn 10.000 ca nhiễm *P. aeruginosa*, tỷ lệ tử vong là 34% ở những bệnh nhân nhiễm *P. aeruginosa* kháng kháng sinh so với 22% ở những

Abstract - Antibiotic resistance is a public health threat and greatly affects people worldwide. *Pseudomonas aeruginosa* is the causative agent of many infectious disease and the incidence of antibiotic resistance in this bacterium is increasing. This study analyzed the frequency of occurrence of antibiotic resistance genes in *Pseudomonas aeruginosa*, thereby screening for inhibitors of antibiotic resistance genes with the highest frequency using virtual screening method. Analysis of 327 *Pseudomonas aeruginosa* genome sequences showed that *blaPAO* was the antibiotic resistance gene with the highest frequency. Using the protein structure from *blaPAO* as a target, the screening process was carried out with 2776 compounds of natural origin. Three compounds named Apilimod, ChEMBL1542212, TMP-195 are potential inhibitors of AmpC- β -lactamase. The pharmacokinetic analysis showed that the selected compounds are suitable for making drugs, and they could be developed as an adjunct of the antibiotic resistance treatment after further *in vitro* validation.

Key words - AmpC- β -lactamase; *blaPAO*; antibiotic resistance; *Pseudomonas aeruginosa*; virtual screening

bệnh nhân nhiễm *P. aeruginosa* nhạy cảm với kháng sinh [3]. Mặc dù, β -lactam là nhóm thuốc kháng khuẩn hiệu quả nhất được sử dụng trong thực hành lâm sàng, nhưng hiệu quả của chúng đã và đang dần bị suy giảm do sự xuất hiện và lan rộng của các chủng kháng kháng sinh.

Kháng kháng sinh (AMR) là hiện tượng khi vi khuẩn và các tác nhân gây bệnh khác trở nên kháng lại tác dụng của các loại kháng sinh, dẫn đến sự khó khăn trong quá trình điều trị nhiễm trùng. Vi khuẩn có khả năng thay đổi di truyền tự nhiên thông qua các quá trình như đột biến và chuyển gen. Những thay đổi này có thể dẫn đến sự biến đổi của các cấu trúc hoặc quá trình trong vi khuẩn, làm cho chúng trở nên kháng kháng sinh. Một số vi khuẩn có khả năng sản xuất các enzym có khả năng phá hủy hoặc vô hiệu hóa kháng sinh. Ngoài ra, vi khuẩn có thể thay đổi thành phần và cấu trúc của màng tế bào hoặc sản xuất hệ thống bơm đặc biệt cho phép chúng chống lại kháng sinh. Một số vi khuẩn có thể thay đổi các mục tiêu mà kháng sinh tác động, làm cho kháng sinh không thể kết hợp với các mục tiêu đó hoặc không thể ức chế hoạt động của chúng. Kháng kháng sinh là một vấn đề y tế công cộng quan trọng đang ngày càng trở nên nghiêm trọng trên toàn cầu. Nếu không được kiểm soát, sự lây lan của AMR có thể khiến nhiều vi khuẩn gây bệnh trong tương lai nguy hiểm hơn rất nhiều. Trên cơ sở các mô hình thống kê dự đoán, ước tính có khoảng 4,95 triệu ca tử vong liên quan đến AMR do vi

¹ The University of Danang - University of Science and Technology, Danang, Vietnam (Ta Ngọc Ly, Tran Thi Thu)

khuan vào năm 2019 trong đó có 1,27 triệu ca tử vong do vi khuẩn AMR. Ở cấp khu vực, ước tính tỷ lệ tử vong ở mọi lứa tuổi do kháng thuốc là cao nhất ở phía tây châu Phi cận Sahara và thấp nhất ở Châu Úc [4].

Sự phát triển của các phương pháp điều trị mới để điều trị nhiễm khuẩn *P. aeruginosa* được mong đợi và đã được chú ý nhiều hơn trong thập kỷ qua. Việc sử dụng kháng sinh β -lactam kết hợp với các chất ức chế được coi là biện pháp hiệu quả chống lại cơ chế kháng thuốc đặc hiệu của vi khuẩn, trong đó việc sàng lọc, tìm kiếm thuốc/chất ức chế mới có ý nghĩa rất quan trọng. Sàng lọc ảo đóng vai trò quan trọng trong việc thiết kế thuốc bằng cách giúp tìm kiếm và lựa chọn các hợp chất tiềm năng, tiết kiệm thời gian, nguồn lực và chi phí, và mang lại sự linh hoạt và khả năng dự đoán trong quá trình. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích tần số xuất hiện gen kháng kháng sinh, tìm ra gen có tần số cao nhất để lựa chọn làm mục tiêu sàng lọc các chất có tiềm năng ức chế gen kháng này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Trình tự bộ gen *P. aeruginosa* được thu nhận từ cơ sở dữ liệu (CSDL) NCBI công bố từ năm 2000 đến nay.

- Cấu trúc 3D của enzyme AmpC beta-lactamase (ID: AF-P24735-F1) từ CSDL RCSB PDB.

- Thư viện hợp chất từ thiên nhiên được thu nhận từ các nghiên cứu trước đó và từ CSDL Enamine (<https://enamine.net/>). Nitrocefin là cơ chất của beta lactamase được sử dụng làm đối chứng dương để kiểm tra quá trình lắp ráp phân tử.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tìm kiếm gen kháng kháng sinh và phân tích tần số xuất hiện kháng kháng sinh.

Để xác định *in silico* các gen kháng kháng sinh và dự đoán kiểu hình kháng kháng sinh, chúng tôi đã sử dụng phần mềm ResFinder theo mô tả của Zankari và cộng sự [5]. Các báo cáo tóm tắt về các gen kháng kháng sinh được phát hiện được tập hợp và phân tích bằng phần mềm Excel. Tần số xuất hiện gen kháng kháng sinh được tính bằng tỷ lệ giữa từng loại gen kháng kháng sinh và tổng số bộ gen được đánh giá trong nghiên cứu.

2.2.2. Xây dựng thư viện các hợp chất tự nhiên

Bộ sưu tập 2776 hợp chất hoạt tính sinh học trong CSDL Enamine và các hợp chất có khả năng kháng khuẩn có nguồn gốc tự nhiên được chọn thông qua các nghiên cứu đã có trước đây được sử dụng để sàng lọc các hợp chất ức chế kháng kháng sinh tiềm năng. Các hợp chất này được tối thiểu hóa năng lượng và chuyển sang định dạng phù hợp để tiến hành lắp ráp phân tử với protein mục tiêu.

2.2.3. Sàng lọc ảo và gắn kết phân tử

Quá trình sàng lọc ảo thực hiện theo qui trình đã công bố trước đây [6]. Cấu trúc 3D của protein mục tiêu là AmpC Beta-lactamase được xử lý bằng phần mềm Discovery studio để loại bỏ đồng yếu tố, bổ sung hydro và điện tích cho cấu trúc để chuẩn bị cho lắp ráp phân tử. Chương trình Autodock vina 4.2 tích hợp trên nền tảng

PyRx 0.8 được sử dụng để thực hiện sàng lọc ảo dựa trên ái lực của 2776 hợp chất ứng cử viên với cấu trúc 3D của protein đích. Từ kết quả phân tích năng lượng gắn, các hợp chất có điểm năng lượng liên kết thấp nhất được xem xét để nghiên cứu thêm.

2.2.4. Phân tích tương tác giữa protein đích và phối tử

Cấu trúc protein đích liên kết với phối tử xác định thông qua lắp ráp phân tử được chuyển thành định dạng PDB bằng phần mềm Pymol, sau đó được gửi phân tích tương tác protein-phối tử bằng chương trình PLIP tại địa chỉ <https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>. PLIP có thể phát hiện và trực quan hóa tương tác ở cấp độ nguyên tử đơn lẻ, bao gồm liên kết hydro, tiếp xúc kỵ nước, xếp chồng π , tương tác cation π , cầu muối, cầu nước và liên kết halogen.

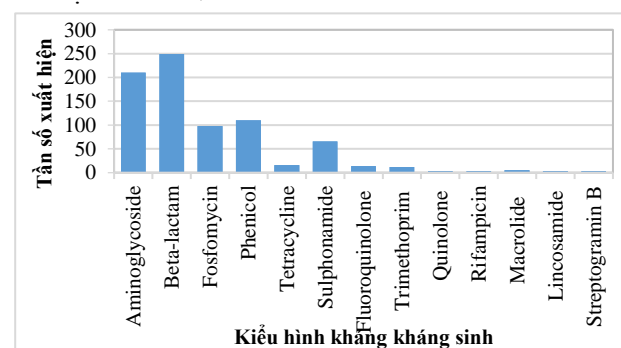
2.2.5. Dự đoán tính chất dược động học của các hợp chất tiềm năng

Tính chất dược động học của các hợp chất lựa chọn được dự đoán bằng công cụ ADMETlab 2.0 nhằm phân tích nhiều khía cạnh quan trọng của thuốc như tính giống thuốc, tính ưa béo, khả năng hòa tan trong nước, dược động học, tính thuốc và các đặc tính hóa học.

3. Kết quả

3.1. Phân tích tần số xuất hiện của gen kháng kháng sinh ở *P. aeruginosa*

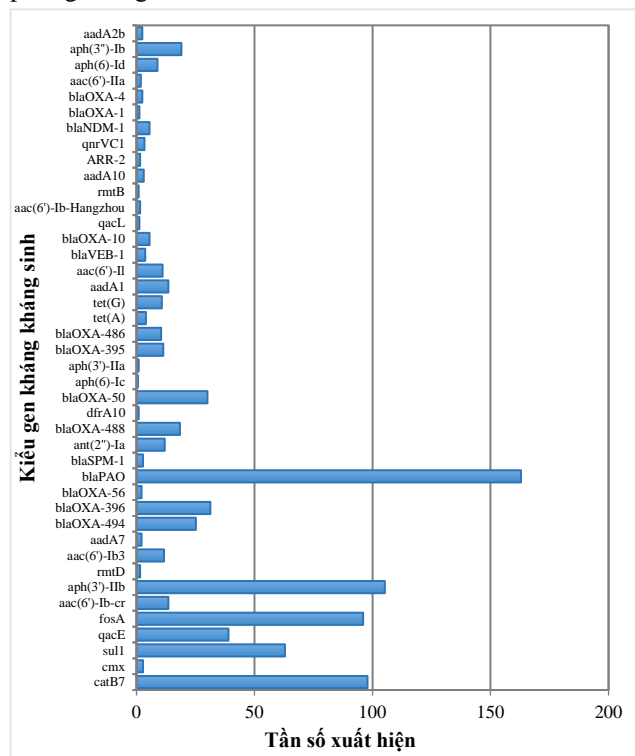
Công cụ tìm kiếm gen kháng kháng sinh Resfinder được sử dụng để phân tích 326 trình tự bộ gen *P. aeruginosa* công bố từ năm 2000 đến nay. Kết quả phân tích tần số xuất hiện gen kháng thuốc theo kiểu hình được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Tần số xuất hiện gen kháng kháng sinh ở *Pseudomonas aeruginosa* theo kiểu hình

Qua phân tích 326 bộ gen vi khuẩn *P. aeruginosa* xuất hiện 13 kiểu hình kháng thuốc bao gồm: Aminoglycoside, Beta-lactam, Fosfomycin, Phenicol, Tetracycline, Sulphonamide, Fluoroquinolone, Trimethoprim, Quinolone, Macrolide, Lincosamide, Streptogramin B, Rifampicin. Trong đó, kiểu hình kháng Beta-lactam có tần số cao nhất, tiếp sau đó là Aminoglycoside, Phenicol, Fosfomycin và Sulphonamide. Tần số xuất hiện gen kháng thuốc theo kiểu gen được thể hiện ở Hình 2. Kết quả cho thấy, với gen blaPAO kháng nhóm Beta-Lactam cho tần số xuất hiện cao nhất. Các gen aph(3')-Iib kháng nhóm Aminoglycosid, gen catB7 kháng nhóm Phenicol và gen fosA kháng nhóm Fosfomycin có tần số xuất hiện thấp tương ứng. Trong đó, nhóm gen kháng kháng sinh

nhóm Beta-lactam xuất hiện nhiều nhất (40 gen kháng), xếp thứ hai là nhóm gen kháng kháng sinh nhóm Aminoglycosid (35 gen kháng). Dựa vào phân loại kháng sinh theo cấu trúc hóa học, bộ gen của vi khuẩn *P.aeruginosa* chứa gen kháng kháng sinh kháng hầu hết tất cả các loại kháng sinh tạo nên sự đa kháng thuốc ở vi khuẩn này. Trong đó đặc biệt quan tâm đến hai loại kháng sinh nhóm Beta-lactam và nhóm Aminoglycosid có chứa nhiều gen kháng và đột biến nhất. Việc sử dụng kháng sinh beta lactam đã trở thành một phương pháp phổ biến để điều trị nhiễm trùng, việc sử dụng kháng sinh beta lactam đã tạo ra một áp lực tiến hóa mạnh mẽ và tạo điều kiện cho sự phát triển và tích tụ các đột biến trong gen kháng sinh beta lactam. Ngoài ra, beta lactam có nhiều đồng gen khác nhau (A, D, C, D), tính đa hình và có nhiều vùng lặp lại, tạo điều kiện cho sự đột biến xảy ra. Phân tích nguồn thu thập mẫu cho thấy, các gen kháng xuất hiện chủ yếu ở các mẫu bệnh lâm sàng của bệnh nhân như dịch hút khí quản, phế quản, giác mạc, vết thương bỏng, vết thương nhiễm trùng, đờm, bệnh nhân nhiễm trùng huyết, chất nhầy trong bệnh nhân bị xơ nang, khí quản, mụn nhọt, nước tiểu và phân của bệnh nhân. Ngoài ra, dữ liệu còn ghi nhận mẫu ở một số dụng cụ y tế như gạc, ống thông, tay ghê nha khoa, chai nước và từ động thực vật như: vỏ cam, thân cây thuốc lá, dâu tằm, chuối. Nơi thu nhận mẫu ghi nhận có *P.aeruginosa* kháng kháng sinh là nước thải, bãi rác, đất, dầu thô, nuôi cấy trong phòng thí nghiệm.



Hình 2. Tần số xuất hiện gen kháng kháng sinh theo kiểu gen

3.2. Sàng lọc hợp chất ức chế gen kháng kháng sinh bằng sàng lọc ảo

Gen BlaPAO có tần số xuất hiện cao nhất trong tổng số trình tự bộ gen khảo sát mã hóa cho protein AmpC Beta-lactamase kháng cephalosporin, cephamycins,

monobactams, penicillin thuộc nhóm kháng sinh Beta Lactam. Cấu trúc 3D của enzyme này đã được nghiên cứu và công bố tại CSDL Uniprot và RSCB PDB, trong đó protein Beta-lactamase (ID: P24735) tại CSDL Uniprot là cấu trúc protein hoàn chỉnh và đầy đủ nhất với phương pháp dự đoán Alpha Fold, bao phủ 397 amini acid với điểm tin cậy > 90. Kết quả dự đoán năng lượng liên kết của protein và 2776 hợp chất trong thư viện bằng phần mềm Autodock Vina chạy trên nền tảng PyRx lựa chọn được 10 hợp chất có năng lượng liên kết thấp nhất tương ứng với ái lực cao nhất (Bảng 1). Năng lượng gắn của các chất được chọn đều thấp hơn nhiều so với đối chứng dương là cơ chất của beta lactamase chứng tỏ quá trình lắp ráp phân tử là tin cậy. Kết quả phân tích tương tác protein-phối tử bằng công cụ PLIP (<https://plip-tool.biotech.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 1. Các hợp chất có năng lượng liên kết thấp nhất với protein AmpC Beta-lactamase

| STT | Tên hợp chất | Công thức phân tử | Khối lượng phân tử (Da) | Năng lượng liên kết (kcal/mol) |
|-----|------------------------------|--|-------------------------|--------------------------------|
| 1 | Apilimod | C ₂₃ H ₂₆ N ₆ O ₂ | 418.5 | -10,0 |
| 2 | CHEMBL1542212 | C ₂₁ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₄ S | 466.5 | -9,8 |
| 3 | TMP195 | C ₂₃ H ₁₉ F ₃ N ₄ O ₃ | 456.4 | -9,7 |
| 4 | CD532 | C ₂₆ H ₂₅ F ₃ N ₈ O | 522.5 | -9,5 |
| 5 | Dactolisib | C ₃₀ H ₂₃ N ₅ O | 469.5 | -9,3 |
| 6 | Dutasteride | C ₂₇ H ₃₀ F ₆ N ₂ O ₂ | 528.5 | -9,2 |
| 7 | Deferasirox | C ₂₁ H ₁₅ N ₃ O ₄ | 373.4 | -9,2 |
| 8 | Gliquidone | C ₂₇ H ₃₃ N ₃ O ₆ S | 527.6 | -9,2 |
| 9 | Nilotinib | C ₂₈ H ₂₂ F ₃ N ₇ O | 529.5 | -9,1 |
| 10 | Elexacaftor | C ₂₆ H ₃₄ F ₃ N ₇ O ₄ S | 597.7 | -9,1 |
| 11 | Nitrocefín (đối chứng dương) | C ₂₁ H ₁₆ N ₄ O ₈ S ₂ | 516.5 | -8,3 |

Bảng 2. Số lượng các liên kết giữa enzyme và hợp chất

| Loại liên kết | Tên hợp chất | | | | |
|---------------|--------------|---------------|---------|-------|------------|
| | Apilimod | CHEMBL1542212 | TMP-195 | CD532 | Dactolisib |
| Hydrogen | 7 | 5 | 7 | 2 | 1 |
| Kỵ nước | 2 | 7 | 5 | 4 | 2 |
| π xếp chồng | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Tổng liên kết | 11 | 12 | 11 | 6 | 5 |

Các tương tác liên phân tử yếu như liên kết hydro và tương tác kỵ nước là những nhân tố chính trong việc ổn định các phối tử tại vị trí mục tiêu. Các chuỗi bên thơm tạo liên kết π xếp chồng giữa cơ chất và enzyme. Các tương tác kỵ nước có thể xảy ra giữa các chuỗi bên của axit amin không phân cực và vùng không cực của phân tử cơ chất. Dựa vào năng lượng liên kết và số liên kết được tạo thành giữa protein và phối tử, năm hợp chất được lựa chọn có khả năng gắn kết với AmpC beta-lactamase bao gồm Apilimod, CHEMBL1542212, TMP-195, CD532, Dactolisib.

Xét tại trung tâm hoạt động và vùng liên kết của AmpC beta-lactamase gồm 397 Amino acids. Trong đó có hai vị trí hoạt động tại SER90 và Y177, một vùng liên

kết tại vị trí 342-344. Apilimod có năng lượng kết liên kết thấp nhất, tạo ba liên kết hydrogen với SER90 và THR343, một liên kết kỵ nước với TYR177 và một liên kết π xếp chồng với TYR177. ChEMBL1542212 tạo hai liên kết kỵ nước với TYR177 và một liên kết hydrogen với SER90. TMP-195 tạo hai liên kết hydrogen với SER90, một liên kết kỵ nước với PRO243. CD532 và Dactolisib không liên kết với trung tâm hoạt động và vùng liên kết của AmpC beta-lactamase.

AmpC beta-lactamase có SER90 xúc tác cho quá trình thủy phân cơ chất [7]. Trong đó, Apilimod và TMP-195 tạo hai liên kết hydrogen và ChEMBL1542212 tạo một liên kết hydrogen. Liên kết hydrogen được chứng minh là có vai trò quan trọng đối với cấu trúc và chức năng của các phân tử sinh học, đặc biệt là đối với sự ức chế trong một phức hợp [8].

3.3. Đánh giá tính dược động học của hợp chất tiềm năng

Kiểm tra tính dược động học của hợp chất nhằm cải thiện tính chất dược động học của hợp chất. So sánh dược động học của nhiều hợp chất để chọn ra những chất tốt nhất cho nghiên cứu, từ đó dự đoán những chất có tính chất dược động học như mong muốn trên người. Một thuốc lý tưởng đạt được sự hấp thu và thâm透 qua màng thường phải đáp ứng một số tiêu chí tốt của Lipinsky như có không quá 5 trung tâm cho liên kết hydro (OH, NH), không quá 10 trung tâm nhận liên kết hydro (O, N), khối lượng phân tử không quá 500 g/mol và giá trị LogP không quá 5.

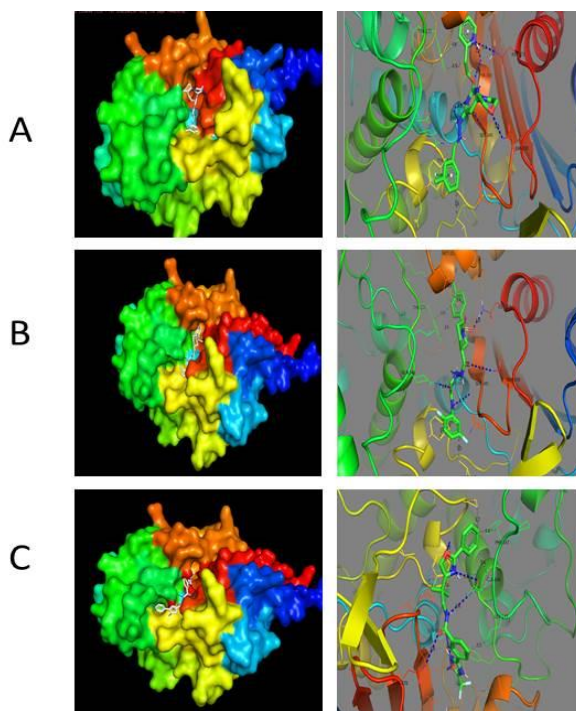
Bảng 3. Kết quả kiểm tra tính dược động học của các hợp chất tại ADMET1ad 2.0

| Tên hợp chất \ Tiêu chí | Lipinsky rule | HIA | LogP | VDss (l/kg) | CL (ml/phút) |
|-------------------------|---------------|------|-------|-------------|--------------|
| Apilimod | Đạt | <30% | 3,516 | 1,257 | 3,565 |
| ChEMBL1542212 | Đạt | <30% | 2,424 | 0,795 | 8,040 |
| TMP-195 | Đạt | <30% | 4,692 | 3,751 | 3,435 |
| CD532 | Không đạt | >30% | 6,150 | 1,124 | 1,896 |
| Dactolisib | Đạt | <30% | 5,581 | 0,819 | 3,123 |

Các hợp chất đều đáp ứng quy tắc Lipinsky ngoại trừ CD532. Chỉ số HIA là chỉ số hấp thụ qua đường ruột ở người của các hợp chất đều có giá trị hấp thụ <30%, ngoại trừ CD532 >30%. Đối với hệ số phân bố đầu nước LogP. Những hợp chất có logP càng thấp thì càng phân cực và càng ít thâm qua lớp lipid kép. Ngược lại, những chất có logP càng cao thì càng không phân cực và càng ít tan trong nước. Một thuốc có logP từ 0-3 sẽ được hấp thu qua dạ dày ruột một cách tối ưu bằng cách khuếch tán thụ động sau khi dùng bằng đường uống. Trong khoảng giá trị logP này có sự cân bằng giữa tính thâm và độ hòa tan của thuốc. ChEMBL1542212 có giá trị logP thấp nhất (2,424), tiếp sau đó là Apilimod, TMP-195, Dactolisib và CD532. VDss là thể tích phân bố ở trạng thái ổn định. VDss từ 0,6 đến 5,0 l/kg được xem là vừa phải và hơn 5,0 l/kg là cao. TMP-195 có giá trị cao nhất tiếp sau đó là Apilimod, CD532, Dactolisib và ChEMBL154221. Xét về giá trị độ thanh thải toàn phần là một phép đo được

động học của thể tích huyết tương mà từ đó một chất được loại bỏ hoàn toàn trên một đơn vị thời gian, có ba ngưỡng đo lường: cao > 15 ml/phút, trung bình 5-15 ml/phút, thấp < 5 ml/phút. Qua các kết quả thu được, ba hợp chất Apilimod, ChEMBL1542212 và TMP-195 đáp ứng được các tiêu chí trên.

Về dược lực học, các nghiên cứu chỉ ra rằng Apilimod hoạt động như một chất ức chế enzyme lipid kinase PIKfyve. PIKfyve tạo ra hai lipid, PtdIns5P và PtdIns(3,5)P2, mà quá trình tổng hợp của chúng bị Apilimod ($ID_{50} = 0,4$ nM) ức chế một cách hiệu quả và tương tự trong các thử nghiệm *in vitro*. Sử dụng apilimod (100 nM; 60 phút) trong tế bào thận phôi người làm giảm đáng kể nồng độ của cả PtdIns5P và PtdIns(3,5)P2. Apilimod ức chế mạnh IL-12 với IC_{50} là 1 nM và 2 nM. TMP195 nổi bật như một chất ức chế đáng chú ý do tính chọn lọc đặc biệt của nó đối với các HDAC loại IIa, cụ thể là HDAC4, HDAC5, HDAC7 và HDAC9, với các giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 15 đến 60 nM. Chưa có nghiên cứu nào về dược lực học của các chất trên để ức chế beta lactamase.



Hình 3. Mô phỏng tương tác giữa protein đích và các chất sàng lọc: Apilimod (A); ChEMBL1542212 (B); TMP-195(C) Chất sàng lọc thể hiện ở định dạng que (stick), protein đích thể hiện ở dạng bề mặt (bên trái) và ở dạng hoạt hình (bên phải)

Apilimod là một hợp chất hữu cơ tổng hợp có công thức phân tử $C_{23}H_{26}N_6O_2$ [9]. Nó là một loại thuốc ban đầu được xác định là chất ức chế sản xuất interleukin IL-12 và IL-23, gần đây, Apilimod đã được tái sử dụng như một loại thuốc chống vi-rút và chống ung thư tiềm năng đặc biệt là điều trị ung thư hạch non-Hodgkin lymphoma cũng như các bệnh do vi-rút như bệnh do vi-rút Ebola, sốt Lassa và COVID-19 [10] [11]. ChEMBL1542212 là chất ức chế TGF- β , Aldehyde Dehydrogenase 1, ức chế sự phát triển của apicoplast trong ký sinh trùng sốt rét [12]. TMP-195 có tác dụng chống ung thư đối với ung thư đại

trực tràng bằng cách thúc đẩy phân cực đại thực bào M1, chất ức chế HDAC loại IIa TMP195 làm giảm tổn thương thận cấp tính do lipopolysaccharit gây ra, chất ức chế chọn lọc Histone deacetylase loại IIa TMP-195 kích thích lại các tế bào ung thư đa kháng thuốc ABCB1 và ABCG2 biểu hiện quá mức đối với các thuốc chống ung thư gây độc tế bào. Như vậy, kết quả nghiên cứu này chỉ ra một tính chất hoàn toàn mới của ba loại thuốc trên là khả năng gắn kết với AmpC beta-lactamase, gợi ý khả năng tái sử dụng 3 loại thuốc này như là chất hỗ trợ điều trị KKS ở *P. aeruginosa*.

4. Kết luận

Kết quả sau khi phân tích tần số gen kháng kháng sinh ở 326 trình tự bộ gen *P. aeruginosa* thu được gen BlaPAO có tần số cao nhất mã hóa enzyme AmpC- β -lactamase. Đây cũng là enzyme được chứng minh là nguyên nhân mạnh nhất gây ra tình trạng kháng kháng sinh ở *P. aeruginosa* trong các nghiên cứu khác. Quá trình sàng lọc ảo được tiến hành trên 2776 hợp chất thu nhận 3 hợp chất có tiềm năng là Apilimod, ChEMBL1542212, TMP-195, là chất có khả năng gắn kết với AmpC- β -lactamase - mục tiêu KKS ở *P. aeruginosa* và đạt các yêu cầu về dược động học để có thể làm chất dẫn đầu trong nghiên cứu phát triển thuốc. Các kết quả của đề tài cho thấy phương pháp nghiên cứu sàng lọc ảo *in silico* là một hướng đi rất tiềm năng trong tìm kiếm các hợp chất có tác dụng sinh học mong muốn. Tuy nhiên, để xác nhận nó có triển vọng, cần phải thực hiện các nghiên cứu dược lý và thực nghiệm *in vitro* và *in vivo*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Bassetti, A. Vena, A. Russo, A. Croxatto, T. Calandra, and B. Guery, "Rational approach in the management of *Pseudomonas aeruginosa* infections", *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 31, no. 6, pp. 578–586, 2018.
- [2] N. Williams *et al.*, "The leading causes of death after burn injury in a single pediatric burn center.", *Crit. Care*, vol. 13, no. 6, pp. 1–7, 2009.
- [3] D. Nathwani, G. Raman, K. Sulham, M. Gavaghan, and V. Menon, "Clinical and economic consequences of hospital-acquired resistant and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review and meta-analysis", *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, vol. 3, no. 1, pp. 3–32, 2014.
- [4] C. J. Murray *et al.*, "Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis", *The Lancet*, vol. 399, no. 10325 pp. 629–655, 2022.
- [5] E. Zankari *et al.*, "Identification of acquired antimicrobial resistance genes", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 11, pp. 2640–2644, 2012.
- [6] T. N. Ly and N. T. A. Thu, "Identification of Mpro potential of Sars-Cov-2 from the database of Viet nam herb", *TNU J. Sci. Technol.*, vol. 227, no. 1, pp. 10–18, 2021.
- [7] K. A. Glen and I. L. Lamont, " β -lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Current Status, Future Prospects", *Pathogens*, vol. 10, no. 12, 2021.
- [8] R. Farmer, B. Gautam, S. Singh, P. K. Yadav, and P. A. Jain, "Virtual screening of AmpC/ β -lactamase as target for antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*", *Bioinformatics*, vol. 4, no. 7, pp. 290–294, 2010.
- [9] "Apilimod, C23H26N6O2", *PubChem* 2023, [Online] Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [Accessed 01/05/2023].
- [10] P. H. Stahl, C. G. Wermuth, "Apilimod compositions and methods for using", *International Union of Pure and Applied Chemistry*, 2015, 374.
- [11] S. Gayle *et al.*, "Identification of apilimod as a first-in-class PIKfyve kinase inhibitor for treatment of B-cell non-Hodgkin lymphoma", *Blood*, vol. 129, no. 13, p. 1768, 2017.
- [12] "N-(2,5-difluorophenyl)-2-[2-[1-(4-methylphenyl)sulfonyl]piperidine-3-carbonyl]hydrazinyl]acetamide, C21H24F2N4O4S", *PubChem* 2023, [Online] Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, [Accessed 04/05/2023].

[1] M. Bassetti, A. Vena, A. Russo, A. Croxatto, T. Calandra, and B. Guery, "Rational approach in the management of *Pseudomonas*