

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT CỦA TINH DẦU THÂN GIẢ LOÀI *CONAMOMUM VIETNAMENSE*

Ngô Thị Thúy^{1,*}, Trần Trung Hiếu², Ngũ Thị Trà Giang², Nguyễn Thị Thu³,
Nguyễn Hoàng Tuấn⁴, Nguyễn Văn Thu⁵

¹Bệnh viện Đại học Y Hà Nội; ²Khoa Hóa học, Trường Đại học Vinh; ³Viện Dược liệu;
⁴Khoa Dược liệu - Dược học cổ truyền, Trường Đại học Dược Hà Nội; ⁵Học Viện Quân y
*Email: ngothuybvdhyhn@gmail.com
(Nhận bài ngày 07 tháng 11 năm 2024)

Tóm tắt

Conamomum vietnamense, một loài mới thuộc họ Gừng, được phát hiện tại Lâm Đồng, Việt Nam vào năm 2022. Nghiên cứu này mô tả thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu chiết xuất từ thân giả của loài *C. vietnamense*. Tinh dầu thu được bằng phương pháp cất kéo hơi nước và phân tích bằng sắc ký khí - khối phổ (GC/MS). Kết quả phân tích cho thấy nhóm chất chủ yếu trong tinh dầu là monoterpene hydrocarbon (59,55%) với α -limonen (32,73%) và 1,8-cineol (12,71%) là hai hợp chất chính. Trong thử nghiệm *in vitro*, tinh dầu thân giả thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật theo thứ tự hiệu quả ức chế như sau: *E. faecalis* $\approx$ *C. albicans* (MIC = 32 μ g/mL) > *B. cereus* $\approx$ *S. enterica* (MIC = 64 μ g/mL) > *S. aureus* $\approx$ *P. aeruginosa* (MIC = 128 μ g/mL) > *E. coli* (MIC = 256 μ g/mL). Nghiên cứu mô phỏng tương tác phân tử giữa các thành phần chính của tinh dầu và protein mục tiêu liên quan đến hoạt động chính của *E. faecalis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* và *C. albicans* cũng đã được tiến hành. Kết quả cho thấy 1,8-cineol và α -pinen có ái lực liên kết mạnh với *E. coli*, trong khi (6E)-nerolidol có tương tác với protein IYYL cao hơn đối với *C. albicans*. Bên cạnh đó, α -limonen và α -phellandren cho thấy khả năng liên kết mạnh đối với cả *C. albicans* và *E. coli*. Đây là lần đầu tiên thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu thân giả *C. vietnamense* được báo cáo.

Từ khóa: *Conamomum vietnamense*, Tinh dầu, Kháng vi sinh vật, Docking.

Summary

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the pseudo-stems of *Conamomum vietnamense*

Conamomum vietnamense, a newly identified species of the Zingiberaceae family, was discovered in Lam Dong, Vietnam, in 2022. This study examined the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil extracted from its pseudo-stems. The essential oil was obtained via hydrodistillation and analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Monoterpene hydrocarbons (59.55%) were identified as the predominant class of compounds in this essential oil, with α -limonene (32.73%) and 1,8-cineole (12.71%) as two main components. Additionally, the essential oil demonstrated antimicrobial activity, with inhibitory efficacy as follows: *E. faecalis* $\approx$ *C. albicans* (MIC = 32 μ g/mL) > *B. cereus* $\approx$ *S. enterica* (MIC = 64 μ g/mL) > *S. aureus* $\approx$ *P. aeruginosa* (MIC = 128 μ g/mL) > *E. coli* (MIC = 256 μ g/mL). A molecular docking study was conducted to investigate ligand-protein interactions involving the major constituents of the essential oil and key proteins from *E. faecalis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, and *C. albicans*. The present study revealed that 1,8-cineole and α -pinene exhibited strong binding affinities to *E. coli*, whereas (6E)-nerolidol demonstrated a higher interaction with the IYYL protein against *C. albicans*. Furthermore, α -limonene and α -phellandrene exhibited notable antimicrobial activities against both *C. albicans* and *E. coli*. This is the first report on the chemical composition of *C. vietnamense* pseudo-stem essential oil and its antimicrobial activity.

Keywords: *Conamomum vietnamense*, Essential oil, Antimicrobial activity, Docking.

1. Đặt vấn đề

Conamomum Ridl. là một chi nhỏ thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), lần đầu tiên được Ridley H. N. báo cáo vào năm 1899. Chi này được Holttum R. E. (1950) xếp vào chi *Amomum* Roxb. Nói cách khác, *Conamomum* được coi là từ đồng nghĩa của chi *Amomum*. Tuy nhiên, dựa trên sự kết hợp giữa bằng chứng phân tử (nrITS và matK) và bằng chứng hình thái, nhà thực vật học Boer H. D. đã đề xuất *Conamomum* là một chi riêng biệt. Hiện nay, trên thế giới có 12 loài *Conamomum* được công nhận, phân bố chủ yếu tại các khu rừng thường xanh ở vùng đất thấp và rừng núi thuộc các nước Đông Nam Á như Việt Nam, Campuchia, Thái Lan, Malaysia, Singapore, Sumatra và Borneo [1]. *C. odorum*, *C. rubidum* và *C. vietnamense* - là loài đặc hữu của Việt Nam, trong khi *C. spiceum* và *C. flavidulum* đều là loài đặc hữu của Malaysia [1]. Việc ứng dụng các loài thuộc chi *Conamomum* trong y học cổ truyền

hiện vẫn chưa được ghi nhận, và các nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của chi này cũng còn hạn chế. Điều này có thể xuất phát từ tính mới lạ của chi, môi trường sống hạn chế và sự khan hiếm của các loài *Conamomum*. Tuy vậy, đã có một số loài *Conamomum* được nghiên cứu sàng lọc thành phần hóa học (chủ yếu của tinh dầu) và đánh giá về tác dụng dược lý. Trong đó, *C. rubidum* được nghiên cứu chi tiết nhất [1]. Một số nghiên cứu cho thấy tác dụng chống viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống ấu trùng và gây độc tế bào của tinh dầu, cao chiết và các hợp chất tinh khiết phân lập từ các loài *Conamomum* [1].

C. vietnamense N.S.Lý & T.S. Hoang là một loài mới, đã được mô tả ở Tây Nguyên, Việt Nam năm 2022 [2]. Một số nghiên cứu cho thấy, limonen, eucalyptol [3] và 1,8-cineol [4] là thành phần chính trong tinh dầu thân rễ và lá *C. vietnamense*. Ngoài ra, tinh dầu của các bộ phận

này cũng thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật mạnh [3],[4]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo thành phần hóa học của tinh dầu thân giả *C. vietnamense* và hoạt tính kháng vi sinh vật của nó. Đồng thời, nghiên cứu tương tác phân tử giữa các phối tử và protein, tập trung vào những thành phần chính của tinh dầu nhằm vào một số protein mục tiêu liên quan đến hoạt động chính của một số chủng vi sinh vật cũng được báo cáo.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Thân giả tươi của loài *Conamomum vietnamense* được thu hái tại xã Lộc Bắc, huyện Bảo Lâm, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam (11°47'31.9"N, 107°35'47.2"E) vào tháng 9 năm 2022. Mẫu được định danh bởi ThS. Nguyễn Danh Đức và PGS.TS. Nguyễn Hoàng Tuấn dựa trên bản mô tả ban đầu [2]. Tiêu bản (HC015) đã được lưu giữ tại Viện Phát triển Ứng dụng, Trường Đại học Thủ Dầu Một.

2.2. Hóa chất, dụng cụ

Nước cất, *n*-hexan, dicloromethan (DCM) và Na₂SO₄ (Merck, Đức), dây đồng đẳng *n*-alkan (C₇ - C₃₀, Merck).

2.3. Thiết bị, dụng cụ

Dụng cụ cất tinh dầu sử dụng bộ cất Clevenger, với nhánh chưng cất tinh dầu 10 mL có chia vạch đến 0,1 mL. Hệ thống sắc ký khí khối phổ được thực hiện trên máy GC (7890B GC) kết hợp với detector khối phổ (HP 5977B MSD). Cột GC được sử dụng là HP-5MS UI (30 m × 0,25 mm id × độ dày màng 0,25 μm, Agilent Technologies, Santa Clara, California, Mỹ).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Chiết xuất tinh dầu

Tinh dầu thân giả của *C. vietnamense* được chiết xuất bằng phương pháp cất kéo hơi nước theo hướng dẫn tại Phụ lục 12.7 của Dược điển Việt Nam V [5]. Quy trình tiến hành như sau: Dược liệu tươi sau khi thu hái được rửa sạch, để ráo nước sau đó thái nhỏ. Cân 300 g dược liệu rồi cho vào bình cầu, thêm nước vào bình với tỷ lệ dược liệu/nước là 1:7 g/mL, sau đó tiến hành cất cho đến khi lượng tinh dầu không tăng thêm (khoảng 3 giờ). Tinh dầu được làm khan bằng Na₂SO₄ và bảo quản ở 4°C để phân tích. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.4.2. Phân tích GC/MS và xác định các thành phần hoá học

Tinh dầu thân giả của *C. vietnamense* được phân tích bằng hệ thống GC/MS, sử dụng khí mang helium (He) với tốc độ dòng 1,0 mL/phút và thể tích tiêm mẫu 1,0 μL ở tỷ lệ chia dòng 50:1. Tinh dầu được pha loãng với DCM theo tỷ lệ 1/100 (v/v). Nhiệt độ ống tiêm và MS Quad được thiết lập ở 300°C và 150°C, trong khi nhiệt độ đường truyền và nguồn MS lần lượt được thiết lập ở 300°C và 230°C. Chương trình nhiệt độ lò bắt đầu ở 60°C (giữ trong 1 phút), sau đó tăng đến

240°C với tốc độ 4°C/phút và giữ trong 4 phút. Phân tích ion hóa sử dụng năng lượng 70 eV (EI), với dải khối lượng quét từ 50 đến 550 *m/z* và tốc độ quét 2,0 lần/giây. Việc xác định các hợp chất trong tinh dầu dựa trên so sánh chỉ số lưu giữ (RI) và phổ khối của chúng với dữ liệu trong cơ sở NIST17 và tài liệu Adams. Hàm lượng tương đối của các thành phần được tính toán dựa trên diện tích pic trên sắc ký đồ GC/MS như được mô tả trong các tài liệu trước đây [6],[7].

2.4.3. Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật

Thử nghiệm sàng lọc khả năng kháng vi sinh vật của tinh dầu thân giả được thực hiện theo phương pháp Hadacek và Greger [8] như đã mô tả trước đây [7]. Các chủng vi khuẩn và nấm, bao gồm *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Enterococcus faecalis* ATCC 29912, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579 và *Candida albicans* ATCC 10231, được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia. Đối chứng dương streptomycin sử dụng cho vi khuẩn và cycloheximid cho nấm. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.4.4. Phương pháp docking phân tử

Mô phỏng docking phân tử đã được tiến hành theo công trình công bố của nhóm tác giả Trần Trung Hiếu và cs. [7]. Các cấu trúc protein của *C. albicans* *N*-myristoyltransferase, *E. coli* enoyl reductase-nad⁺-triclosan, *E. faecalis* carbamate kinase, *S. aureus* TyrRS, và *B. cereus* PatB1 được tải về từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB (<https://www.rcsb.org/>) với PDB ID lần lượt là 1IYL, 1C14, 2WE5, 1JIJ và 5V8E. Sau đó, các cấu trúc protein này được chuẩn bị bằng cách loại bỏ các phối tử đồng kết tinh, bổ sung các nguyên tử hydrogen bị thiếu, tính toán điện tích Kollman và chuyển định dạng của nó sang định dạng PDBQT sử dụng phần mềm AutoDockTools phiên bản 1.5.6 (CCSB, Scripps Research). Các cấu trúc của các hợp chất chính trong tinh dầu thân giả loài *C. vietnamense* được vẽ trong phần mềm Marvin Sketch (ChemAxon, Budapest, Hungary, www.chemaxon.com) và tiếp đó được tối ưu cấu trúc ba chiều thông qua trường lực MMFF94s sử dụng chương trình Avogadro [9]. Các thông số tọa độ hộp cho vùng khảo sát của các protein nghiên cứu được thiết lập sao cho bao phủ toàn bộ vị trí hoạt động với kích thước hộp được thiết lập là 22×22×22 và tâm hộp được đặt theo tâm của phối tử đồng kết tinh tương ứng của chúng. Các tham số khác được thiết lập mặc định, chỉ riêng tham số “exhaustiveness” được gán là 400 cho chương trình AutoDock Vina phiên bản 1.2.3 (Center for Computational Structural Biology (CCSB), Scripps Research, <http://vina.scripps.edu/>) [10]. Các thông số này đã được xác nhận có độ tin cậy cao thông qua đánh giá re-docking như được báo cáo trong tài liệu nghiên cứu trước đây [7]. Các kết quả dock tốt

nhất của mỗi hợp chất nghiên cứu được chọn và phân tích tương tác giữa protein và phối tử sử dụng phần mềm Discovery Studio Visualizer.

3. Kết quả và bàn luận

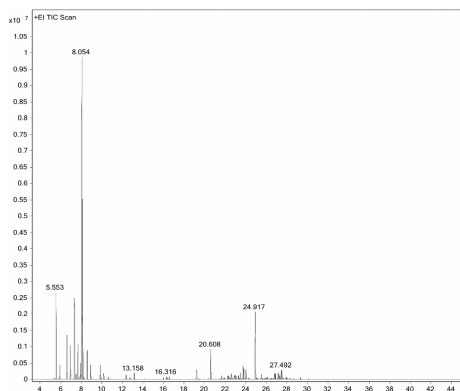
3.1. Thành phần hóa học của tinh dầu

Tinh dầu từ thân giả loài có màu vàng nhạt và nhẹ hơn nước. Hàm lượng tinh dầu 0,24% (w/w) tính theo khối lượng tươi. Thành phần tinh dầu được phân tích bằng GC/MS. Kết quả được trình bày ở **Bảng 1**.

Bảng 1. Thành phần hóa học của tinh dầu thân giả loài *C. vietnamense*

STT	Hợp chất	RT	RI ^a	RI ^b	CTPT	Phần trăm (%)
1	α-Pinen	5,553	940	937	C₁₀H₁₆	5,55
2	Camphen	5,914	955	952	C ₁₀ H ₁₆	1,06
3	β -Pinen	6,612	981	979	C ₁₀ H ₁₆	3,05
4	β -Myrcen	6,938	993	991	C ₁₀ H ₁₆	2,26
5	α-Phellandren	7,333	1007	1005	C₁₀H₁₆	6,20
6	3-Caren	7,504	1014	1011	C ₁₀ H ₁₆	0,37
7	α -Terpinen	7,682	1020	1017	C ₁₀ H ₁₆	2,55
8	<i>p</i> -Cymen	7,911	1029	1025	C ₁₀ H ₁₄	1,29
9	α-Limonen	8,054	1034	1030	C₁₀H₁₆	32,73
10	1,8-Cineol (Eucalyptol)	8,122	1037	1032	C₁₀H₁₈O	12,71
11	β -(<i>Z</i>)-Ocimen	8,271	1042	1038	C ₁₀ H ₁₆	0,16
12	β -(<i>E</i>)-Ocimen	8,586	1052	1049	C ₁₀ H ₁₆	2,09
13	γ -Terpinen	8,924	1063	1060	C ₁₀ H ₁₆	1,10
14	Terpinolen	9,845	1091	1088	C ₁₀ H ₁₆	1,14
15	2-Nonanon	9,936	1094	1092	C ₉ H ₁₈ O	0,10
16	β -Linalool	10,182	1100	1099	C ₁₀ H ₁₈ O	0,47
17	<i>exo</i> -Fenchol	10,640	1116	1113	C ₁₀ H ₁₈ O	0,20
18	<i>endo</i> -Borneol	12,345	1170	1167	C ₁₀ H ₁₈ O	0,42
19	Terpinen-4-ol	12,729	1181	1177	C ₁₀ H ₁₈ O	0,14
20	α -Terpineol	13,158	1193	1189	C ₁₀ H ₁₈ O	0,58
21	Bornyl acetat	16,316	1289	1285	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0,25
22	Dihydrocedulan	16,408	1291	1293	C ₁₃ H ₂₂ O	0,08
23	2-Undecanon	16,545	1295	1294	C ₁₁ H ₂₂ O	0,25
24	α -Copaen	19,229	1380	1376	C ₁₅ H ₂₄	0,84
25	Methyl cinnamat	19,418	1385	1380	C ₁₁ H ₁₀ O ₂	0,07
26	β -Caryophyllen	20,608	1423	1419	C ₁₅ H ₂₄	2,83
27	Humulen	21,661	1458	1454	C ₁₅ H ₂₄	0,38
28	Alloaromadendren	21,878	1465	1461	C ₁₅ H ₂₄	0,13
29	γ -Muurolen	22,353	1480	1477	C ₁₅ H ₂₄	0,37
30	Aristolochen	22,599	1488	1487	C ₁₅ H ₂₄	0,80
31	Viridifloren	22,902	1497	1493	C ₁₅ H ₂₄	0,72
32	Epizonaren	23,028	1501	1499	C ₁₅ H ₂₄	0,69
33	β -Bisabolen	23,292	1511	1509	C ₁₅ H ₂₄	0,40
34	γ -Cadinen	23,486	1518	1513	C ₁₅ H ₂₄	0,61
35	δ -Cadinen	23,755	1527	1524	C ₁₅ H ₂₄	1,31
36	Cubenen	24,018	1537	1532	C ₁₅ H ₂₄	0,88
37	α -Calacoren	24,322	1547	1542	C ₁₅ H ₂₄	0,10
38	(6<i>E</i>)-Nerolidol	24,917	1567	1564	C₁₅H₂₆O	5,96
39	Palustrol	25,071	1572	1567	C ₁₅ H ₂₆ O	0,08
40	Caryophyllenyl alcohol	25,128	1574	1570	C ₁₅ H ₂₆ O	0,11
41	Caryophyllen oxid	25,523	1587	1581	C ₁₅ H ₂₄ O	0,54
42	α -Guaiol	25,929	1601	1596	C ₁₅ H ₂₆ O	0,06
43	Epicubenol	26,793	1633	1627	C ₁₅ H ₂₆ O	0,61
44	γ -Eudesmol	26,879	1636	1631	C ₁₅ H ₂₆ O	0,64
45	α - <i>epi</i> -Cadinol	27,183	1647	1640	C ₁₅ H ₂₆ O	1,03
46	δ -Cadinol	27,286	1651	1645	C ₁₅ H ₂₆ O	0,43
47	β -Eudesmol	27,406	1655	1649	C ₁₅ H ₂₆ O	0,68
48	α -Eudesmol	27,492	1658	1653	C ₁₅ H ₂₆ O	1,42
49	Intermedeol	27,640	1663	1667	C ₁₅ H ₂₆ O	0,13
Monoterpen hydrocarbon (1-9, 11-14)						59,55
Monoterpen chứa oxy (10, 16-21)						14,77
Sesquiterpen hydrocarbon (24, 26-37)						10,06
Sesquiterpen chứa oxy (38-49)						11,69
Các hợp chất khác (15, 22, 23, 25)						0,50
Tổng						96,57

Chú thích: RT: Thời gian lưu (phút); RI^a: Chỉ số lưu giữ thực nghiệm; RI^b: Chỉ số lưu giữ theo tài liệu tham khảo (ngân hàng dữ liệu NIST17 và sách Adams) [11]; CTPT: Công thức phân tử; các thành phần chính được in đậm.



Hình 1. Sắc ký đồ GC của tinh dầu thân giả của loài *C. vietnamense*

Tinh dầu thân giả có 49 thành phần, chiếm 96,57% hàm lượng tinh dầu, trong đó, monoterpene hydrocarbon chiếm 59,55% trong tổng số các hợp chất xác định được sau đó đến monoterpene chứa oxy (14,77%), sesquiterpene chứa oxy (11,69%), sesquiterpene hydrocarbon (10,06%) và một số hợp chất khác (0,50%). Các thành phần chính bao gồm α -limonen (32,73%),

1,8-cineol (12,71%), α -phellandren (6,20%), (6*E*)-nerolidol (5,96%) và α -pinen (5,55%).

Tinh dầu thân rễ và lá của loài *C. vietnamense* cũng đã được nghiên cứu [3],[4]. Hàm lượng tinh dầu thu được từ thân rễ và lá lần lượt là 0,37% và 0,43%, cao hơn so với thân giả. Trong tinh dầu, có sự hiện diện của 52 cấu tử ở thân rễ và 28 cấu tử ở lá. Thành phần của các tinh dầu này cũng có sự tương đồng với tinh dầu thân giả, đều chứa hàm lượng cao limonen (18,74 và 26,20%) và 1,8-cineol (40,47 và 49,49%). Tuy nhiên, các hợp chất chính trong tinh dầu thân giả như α -phellandren và (6*E*)-nerolidol chiếm hàm lượng cao hơn so với trong tinh dầu thân rễ và lá. Ngoài ra, các hợp chất như viridifloren, δ -cadinen và caryophyllen oxid chỉ có trong tinh dầu thân giả, hay camphor, camphen hydrat, fenchyl acetat, cadina-1(6),4-dien, (-)-globulol chỉ có trong tinh dầu thân rễ và cadina-1(10),4-dien có trong cả tinh dầu thân rễ và lá.

3.2. Hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu

Hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu chiết từ thân giả *C. vietnamense* được đánh giá thông qua các giá trị MIC và được trình bày trong **Bảng 2**.

Bảng 2. Hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu thân giả loài *C. vietnamense*

Vi sinh vật	MIC (μ g/mL)		
	Tinh dầu thân giả	Streptomycin	Cycloheximid
<i>E. faecalis</i> ATCC 299212	32	256	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	128	256	-
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	64	128	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	256	32	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	128	256	-
<i>S. enterica</i> ATCC 13076	64	128	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	32	-	32

Chú thích: MIC = Nồng độ ức chế tối thiểu; n = 3; (-) không thử nghiệm.

Kết quả cho thấy tinh dầu thân giả *C. vietnamense* có tác dụng ức chế đáng kể tất cả các chủng vi sinh vật được thử nghiệm với MIC dao động từ 32 đến 256 μ g/mL. Cụ thể, tinh dầu cho thấy hiệu quả ức chế mạnh nhất đối với *E. faecalis* và *C. albicans* (MIC = 32 μ g/mL), tiếp theo là *B. cereus* và *S. enterica* (MIC = 64 μ g/mL). Các chủng *S. aureus*, *P. aeruginosa* (MIC = 128 μ g/mL) và *E. coli* ít nhạy cảm hơn (MIC = 256 μ g/mL). Đối chứng dương streptomycin và cycloheximid có MIC từ 32 đến 256 μ g/mL.

Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng tinh dầu có nhiều tác dụng sinh học như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng ung thư, chống viêm, chống oxy hóa,... Vì vậy, nhiều loài thực vật chứa tinh dầu đã được ghi nhận là nguồn tiềm năng cho việc phát triển các tác nhân kháng vi sinh vật mới [12]. Tinh dầu từ lá và thân rễ của *C. vietnamense*, trong đó 1,8-cineol và limonen là các hợp chất chiếm ưu thế, đã thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với *S. aureus* và *B. subtilis*

(MIC = 25 μ g/mL). Ngoài ra, tinh dầu này cũng hiệu quả đối với các vi sinh vật khác như *E. faecalis*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* và *C. albicans*, với MIC dao động từ 32 đến 128 μ g/mL [1].

Trong nghiên cứu này, các thành phần chính của tinh dầu từ thân giả *C. vietnamense* bao gồm α -limonen (32,73%), 1,8-cineol (12,71%), α -phellandren (6,20%), (6*E*)-nerolidol (5,96%) và α -pinen (5,55%). Nghiên cứu cho thấy, limonen đã được chứng minh có hoạt tính ức chế đáng kể đối với vi khuẩn Gram âm và Gram dương cũng như một số loại nấm như *A. niger*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* và *E. coli* [13],[14]. Ngoài ra, 1,8-cineol hay còn gọi là eucalyptol, cũng cho thấy khả năng kháng khuẩn mạnh trên cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm, bao gồm cả các chủng kháng kháng sinh [15]. Eucalyptol còn có tác dụng kháng khuẩn hiệp đồng khi kết hợp với kháng sinh. Bên cạnh đó, các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng α -pinen có hiệu quả chống lại nhiều loại vi khuẩn (như *P. putida*, *S. epidermidis*,

S. aureus, *E. coli*, v.v.) và nấm (*C. albicans*) [16]. Tuy nhiên, tinh dầu là một hỗn hợp phức tạp, vì vậy hoạt động kháng vi sinh vật của nó có thể liên quan đến từng hợp chất riêng lẻ hoặc tác dụng hiệp đồng giữa các thành phần chính và phụ trong tinh dầu.

3.3. Kết quả ái lực liên kết và phân tích tương tác protein và phối tử từ mô phỏng docking phân tử

Dựa trên kết quả hoạt tính *in vitro* kháng vi sinh vật tốt của tinh dầu thân giả loài *C. vietnamense*, mô phỏng docking phân tử tiếp tục được thực hiện với mục tiêu đánh giá tiềm năng ức chế và các tương tác giữa các protein nghiên cứu liên quan đến cơ chế kháng khuẩn và kháng nấm với các thành phần chính trong tinh dầu. Các đích protein được chọn như *C. albicans* N-myristoyltransferase (PDB ID 1IYL), *E. coli* enoyl reductase-NAD⁺-trichosan (PDB ID 1C14), *E. faecalis* carbamat kinase (PDB ID 2WE5), *S.*

aureus TyrRS (PDB ID 1JIJ) và *B. cereus* PatB1 (PDB ID 5V8E) cho docking phân tử dựa trên tầm quan trọng sinh học và tiềm năng ứng dụng trong phát triển thuốc [17],[18],[19],[20]. Đây đều là những protein thiết yếu cho sự sống còn và khả năng gây bệnh của các vi sinh vật này, đồng thời có sự khác biệt đáng kể so với protein tương đồng ở người, giúp tăng tính chọn lọc và giảm nguy cơ tác dụng phụ [17]. Ví dụ, N-myristoyltransferase là enzym cần thiết cho sự sinh trưởng của *C. albicans*, trong khi TyrRS tham gia vào tổng hợp tRNA ở *S. aureus*, đặc biệt quan trọng với các chủng kháng kháng sinh [17]. Do đó các đích này được sử dụng cho nghiên cứu mô phỏng docking hiện tại. Các hợp chất này gồm α -pinen, α -phellandren, α -limonen, 1,8-cineol và (6E)-nerolidol được tiến hành gắn kết vào vị trí hoạt động của các protein 1IYL, 1C14, 2WE5, 1JIJ và 5V8E. Các kết quả mô phỏng thu được được trình bày trong **Bảng 3**.

Bảng 3. Ái lực liên kết của các thành phần chính với các protein *C. albicans* N-myristoyltransferase (PDB ID 1IYL), *E. coli* enoyl reductase-nad⁺-trichosan (PDB ID 1C14), *E. faecalis* carbamat kinase (PDB ID 2WE5), *S. aureus* TyrRS (PDB ID 1JIJ) và *B. cereus* PatB1 (PDB ID 5V8E)

STT	Tên chất	Thụ thể	Ái lực liên kết	Liên kết/tương tác	Acid amin
1	1,8-Cineol	1IYL	-5,570	π -alkyl	Phe339, Phe240, His227, Phe115
		1C14	-6,392	π -sigma alkyl, π -alkyl	Tyr146 Ala189, Ala197, Ile200, Phe203, Pro191, Ile192, Met206, Ile20
		2WE5	-4,372	Alkyl	Val206, Lys209
		1JIJ	-4,865	Hydrogen alkyl, π -alkyl	Asp40 His50, Ala39
		5V8E	-4,347	alkyl	Val206, Lys209
2	(6E)-Nerolidol	1IYL	-6,392	Hydrogen alkyl, π -alkyl	His227 Tyr225, Leu394, Tyr354, Leu415
		1C14	-5,996	Hydrogen alkyl, π -alkyl	Lys163 Ile200, Ala197, Tyr156, Ile20, Ile192
		2WE5	-6,051	Hydrogen alkyl, π -alkyl	Asp208, Lys209 Val206, Val55, Ile130, Leu75
		1JIJ	-6,180	Hydrogen alkyl, π -alkyl	Asp40 Pro53, His50, Phe54
		5V8E	-6,255	π -alkyl	His201, Phe338, His202
3	α -Limonen	1IYL	-4,372	π -sigma alkyl, π -alkyl	Tyr225 Tyr354, His227, Val449, Leu415, Leu394
		1C14	-4,612	π -sigma alkyl, π -alkyl	Tyr146 Ala189, Ile20, Phe203, Met206, Pro191, Ile200, Leu144
		2WE5	-5,118	alkyl, π -alkyl	Val231, Tyr238, Met268
		1JIJ	-5,414	alkyl	Leu70, Cys37
		5V8E	-4,448	π -alkyl	His202, Phe338, His201
4	α -Phellandren	1IYL	-4,865	alkyl, π -alkyl	Tyr225, Leu394, Tyr354, Val449, Tyr335
		1C14	-5,665	π -sigma alkyl, π -alkyl	Tyr146 Ile20, Phe203, Met206, Pro191, Ile200, Leu144
		2WE5	-5,706	alkyl, π -alkyl	Ala264, Tyr238, Met268, Val234
		1JIJ	-5,612	alkyl	Ile200, Cys37, Leu70
		5V8E	-4,503	π -alkyl	Phe338, His202, His201
5	α -Pinen	1IYL	-4,347	π -alkyl	Tyr225, Phe339, His227, Phe240, Phe115
		1C14	-4,226	π -sigma alkyl, π -alkyl	Tyr146 Met206, Ile192, Ile20, Ala197, Phe203, Pro191, Ile200
		2WE5	-4,030	alkyl	Lys209
		1JIJ	-4,151	alkyl, π -alkyl	His50, Pro53
		5V8E	-3,891	alkyl, π -alkyl	Met391, His201, His202, Phe338

Từ bảng này, các ái lực liên kết của các thành phần chính cho thấy giá trị nằm trong phạm vi từ -5.57 đến -7.178 kcal/mol đối với protein 1IYL, -5.996 đến -6.393 kcal/mol đối với protein 1C14, -4.372 đến -5.414 kcal/mol đối với protein 2WE5, -4.503 đến -4.865 kcal/mol đối với protein 1JJJ, -4.03 đến -4.347 kcal/mol đối với protein 5V8E. Hợp chất (6E)-nerolidol thể hiện ái lực liên kết tốt nhất so với các hợp chất khác khi gắn vào vị trí hoạt động của protein *C. albicans* N-myristoyltransferase (PDB ID 1IYL). Mặt khác, 1,8-cineol thể hiện tiềm năng ức chế hiệu quả nhất đối với các protein enoyl ACP reductase (*E. coli*), carbamat kinase (*E. faecalis*) và PatB1 (*B. cereus*). Cuối cùng, α -limonen và α -phellandren lần lượt có ái lực liên kết mạnh với các protein TyrRS (*S. aureus*) và carbamat kinase (*E. faecalis*). Hơn nữa, các tương tác giữa các protein và hợp chất được chọn đã được trình bày trong **Bảng 3**. Kết quả cho thấy các phối tử hình thành một số tương tác kỵ nước với các gốc acid amin khác nhau tại vị trí hoạt động của tyrosyl-tRNA synthetase của *S. aureus*. Với 1,8-cineol, ba tương tác đã được hình thành, bao gồm một tương tác hydrogen và 2 tương tác alkyl và π -alkyl. Các gốc His50 và Ala39 thiết lập các tương tác alkyl và π -alkyl với phối tử, trong khi gốc Asp40 hình thành một tương tác hydrogen. Một monoterpene khác, (6E)-nerolidol hình thành một tương tác các hydrogen tương tự với 1,8-cineol. Bên cạnh đó, hợp chất này còn tạo liên kết với Pro53, His50, Phe54 bằng tương tác alkyl và π -alkyl. α -Limonen chỉ thiết lập tương tác alkyl với các α -aminoacid như Leu70, Cys37. Cũng tương tự như vậy, α -phellandren còn tương tác với Ile200. Trong khi đó α -pinen tạo tương tác alkyl và π -alkyl với His50, Pro53. Đối với enzym enoyl reductase (*E. coli*) (PDB ID: 1C14), hợp chất 1,8-cineol tạo ra chín liên kết kỵ nước với các gốc amino acid. Trong đó, tám liên kết là loại alkyl và π -alkyl, tương tác với các gốc Ala189, Ala197, Ile200, Phe203, Pro191, Ile192, Met206 và Ile20. Liên kết còn lại là tương tác của Tyr146 thông qua ba loại liên kết: alkyl, π -alkyl và π -Sigma. Hợp chất (6E)-nerolidol hình thành liên kết hydrogen với Lys163 và liên kết alkyl, π -alkyl với các gốc Ile200, Tyr156, Ile20, Ile192 và Ala197. Trong khi đó, α -limonen và α -phellandren có tương tác π -sigma với Tyr146 và tạo bảy liên kết alkyl, π -alkyl với các gốc Ala189, Phe203, Pro191, Met206, Ile200, Leu144 và Ile20. Hợp chất α -pinen tương tác π -alkyl với các

gốc Tyr225, Phe339, His227, Phe115 và Phe240. Trong cấu trúc protein 1JJJ, 1,8-cineol tương tác với Asp40 bằng liên kết hydrogen và liên kết π -alkyl, π -sigma với His50 và Ala39. Đối với (6E)-nerolidol, hợp chất này liên kết hydrogen với Asp40 cùng các tương tác alkyl và π -alkyl với Pro53, His50 và Phe54 làm nổi bật đặc tính liên kết đa dạng của nó. α -Limonen hình thành liên kết alkyl với Leu70 và Cys37, trong khi α -phellandrene có liên kết alkyl với Ile200, Cys37 và Leu70. Một monoterpene khác, α -pinen có các tương tác alkyl và π -alkyl với His50 và Pro53. Trong vùng hoạt động của protein 2WE5, 1,8-cineol tạo ra liên kết alkyl với Val206 và Lys209, còn (6E)-nerolidol hình thành liên kết hydrogen với Asp208 và Lys209, đồng thời tạo liên kết alkyl với Val206, Val55, Ile130 và Leu75. α -Limonen tiếp tục biểu hiện tính tương tác mạnh mẽ với các gốc amino acid Val231, Tyr238 và Met268 thông qua liên kết alkyl và π -alkyl. Tương tự, α -phellandren cũng tạo các liên kết này với Ala264, Tyr238, Met268 và Val234, còn α -pinen thì hình thành liên kết alkyl với Val206 và Lys209. Cuối cùng, quan sát trong vùng hoạt động protein 5V8E, 1,8-cineol tương tác với Lys103 thông qua liên kết hydrogen, đồng thời tạo các liên kết π -alkyl với His201 và Phe338. (6E)-Nerolidol có các liên kết π -alkyl với His201, Phe338 và His202. Cả α -limonen và α -phellandren đều có liên kết π -alkyl với Phe338, His202 và His201, trong khi α -pinen liên kết với Met391, His202, His201 và Phe338 thông qua các tương tác alkyl và π -alkyl.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy tinh dầu thân giả của *C. vietnamense* chứa chủ yếu là monoterpene hydrocarbon (59,55%), trong đó α -limonen (32,73%) và 1,8-cineol (12,71%) là hai hợp chất chính. Ngoài ra, tinh dầu này thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật với thứ tự hiệu quả ức chế như sau: *E. faecalis* $\approx$ *C. albicans* (MIC = 32 μ g/mL) > *B. cereus* $\approx$ *S. enterica* (MIC = 64 μ g/mL) > *S. aureus* $\approx$ *P. aeruginosa* (MIC = 128 μ g/mL) > *E. coli* (MIC = 256 μ g/mL). Nghiên cứu cũng mô phỏng tương tác phân tử giữa các thành phần chính của tinh dầu và các protein mục tiêu, cho thấy 1,8-cineol và α -pinen có ái lực liên kết mạnh với *E. coli*, trong khi (6E)-nerolidol có tương tác với protein 1IYL cao hơn đối với *C. albicans*. Mặt khác, α -limonen và α -phellandren thể hiện hoạt động kháng vi sinh vật tiềm năng đối với cả *C. albicans* và *E. coli*.

Tài liệu tham khảo

1. Chen T. V., Boonma T., Triet N. T., Duong Phan N. D., Trong Nghia N., Saensouk S., Thi Thu Hien N. (2024), Exploring the botany and pharmacology of the genus *Conamomum* Ridl. (Zingiberaceae), *Nordic Journal of Botany*, e04504.
2. Ly N. S., Hoang T. S., Oudomphone I., Thomas H., Mark F. N. (2022), *Conamomum vietnamense* (Zingiberaceae), a new species from Tay Nguyen, Vietnam, *Phytotaxa*, 531(2), 129-135.
3. Nguyen D. D., Nguyen N. H., Tran T. H., Nguyen D. K., Nguyen L. T. T. (2023), Limonene and eucalyptol rich essential oils with their antimicrobial activity from the leaves and rhizomes of *Conamomum vietnamense* NS Lý & TS Hoang (Zingiberaceae), *Pharmacia*, 1, 91-97.
4. Huong L. T., The Son N., Sam L.

N., Minh P. N., Luyen N. D., Hung N. H., Dai D. N. (2023), Essential oils of the ginger plants *Meistera caudata* and *Conanomom vietnamense*: chemical compositions, antimicrobial, and mosquito larvicidal activities, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 78(9-10), 337-344. 5. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V - Tập 2, Phụ lục 12.7 - Định lượng tinh dầu trong dược liệu*, NXB Y học, Hà Nội, PL-274-275. 6. Nguyen L. T. K., Doan T. Q., Nguyen P. Q. D., Nguyen C. B. H., Tran L. T. T., Tran T. V. A., Nguyen H. T., Ho D. V. (2023), Phytochemical composition and bioactivities of essential oils from rhizomes of *Homalomena pendula* and *Homalomena cochinchinensis*, *Natural Product Communications*, 18(5), 1934578X231175263. 7. Tran T. H., Thuan V. T., Ha N. X., Van Hue N., Nguyen N. H., Nguyen T. H., Tuan N. H., Van Chen T., Hien N. T. T., Giang L. D. (2023), Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil obtained from the rhizomes of *Kaempferia champasakensis*: *in vitro* and molecular docking studies, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 26(4), 958-969. 8. Hadacek F., Greger H. (2000), Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice, *Phytochemical Analysis*, 11(3), 137-147. 9. Halgren T. A. (1999), MMFF VI. MMFF94s option for energy minimization studies, *Journal of Computational Chemistry*, 20(7), 720-729. 10. Eberhardt J., Santos-Martins D., Tillack A. F., Forli S. (2021), AutoDock Vina 1.2. 0: New docking methods, expanded force field, and python bindings, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(8), 3891-3898. 11. Adams R. P. (2001), *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*, Allured Publishing, Carol Stream, Illinois. 12. Angane M., Swift S., Huang K., Butts C. A., Quek S. Y. (2022), Essential oils and their major components: An updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry, *Foods*, 11(3), 464. 13. Vuuren S. F. van., Viljoen A. M. (2007), Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1, 8-cineole alone and in combination, *Flavour and Fragrance Journal*, 22(6), 540-544. 14. Han Y., Sun Z., Chen W. (2019), Antimicrobial susceptibility and antibacterial mechanism of limonene against *Listeria monocytogenes*, *Molecules*, 25(1), 33. 15. Merghni A., Noumi E., Haddad O., Dridi N., Panwar H., Ceylan O., Mastouri M., Snoussi M. (2018), Assessment of the antibiofilm and antitumor sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1,8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains, *Microbial Pathogenesis*, 118, 74-80. 16. Hriouech S., Akhouch A. A., Mzabi A., Chefchaou H., Tanghort M., Oumokhtar B., Chami N., Remmal A. (2020), The antistaphylococcal activity of amoxicillin/clavulanic acid, gentamicin, and 1,8-cineole alone or in combination and their efficacy through a rabbit model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(1), 4271017. 17. Sogabe S., Masubuchi M., Sakata K., Fukami T. A., Morikami K., Shiratori Y., Ebike H., Kawasaki K., Aoki Y., Shimma N., D'Arcy A. (2002), Crystal structures of *Candida albicans* N-myristoyltransferase with two distinct inhibitors, *Chemistry & Biology*, 9(10), 1119-1128. 18. Qiu X., Janson C. A., Smith W. W., Green S. M., McDewitt P., Johanson K., Carter P., Hibbs M., Lewis C., Chalker A., Fosberry A. (2001), Crystal structure of *Staphylococcus aureus* tyrosyl-tRNA synthetase in complex with a class of potent and specific inhibitors, *Protein Science*, 10(10), 2008-2016. 19. Ramón-Maiques S., Marina A., Guinot A., Gil-Ortiz F., Uriarte M., Fita I., Rubio V. (2010), Substrate binding and catalysis in carbamate kinase ascertained by crystallographic and site-directed mutagenesis studies: movements and significance of a unique globular subdomain of this key enzyme for fermentative ATP production in bacteria, *Journal of Molecular Biology*, 397(5), 1261-1275. 20. Sychantha D., Little D. J., Chapman R. N., Boons G. J., Robinson H., Howell P. L., Clarke A. J. (2018), PatB1 is an O-acetyltransferase that decorates secondary cell wall polysaccharides, *Nature Chemical Biology*, 14(1), 79-85.

Tạp chí Dược liệu, tập 30, số 1/2025 (Trang 18 - 24)

CHIẾT XUẤT, PHÂN LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ỨNG CHẾ α -GLUCOSIDASE *IN VITRO* VÀ *IN SILICO* CỦA GINSENOSID Rđ TRONG SÂM VIỆT NAM

Chữ Lương Luân¹, Nguyễn Thị Vân Anh², Đặng Hoàng Hiệp³, Đặng Thị Ngân⁴, Nguyễn Thị Hoàng Anh⁴,
Nguyễn Ngọc Hiếu³, Vũ Văn Tuấn³, Phạm Hà Thanh Tùng³, Nguyễn Hữu Tùng^{3,*}

¹Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội (VNU);

²Khoa Công nghệ Sinh học, Hóa học & Kỹ thuật Môi trường, Trường Đại học Phenikaa;

³Khoa Dược, Trường Đại học Phenikaa;

⁴Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội (VNU)

*Email: tung.nguyenhuu@phenikaa-uni.edu.vn

(Nhận bài ngày 15 tháng 6 năm 2024)

Tóm tắt

Ginsenosid Rđ là một trong bốn hoạt chất saponin chính được qui định trong chuyên luận dược liệu Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) theo Dược Điển Việt Nam V bên cạnh ginsenosid Rg₁, ginsenosid Rb₁ và majonosid R₂. Trong nghiên cứu phát triển thuốc điều trị đái tháo đường typ 2, đích tác dụng phân tử enzym α -glucosidase đã và đang được quan tâm với một số hoạt chất ức chế enzym α -glucosidase được sử dụng trong điều trị như acarbose và miglitol. Theo đó, nghiên cứu của chúng tôi về thành phần ginsenosid Rđ được tiến hành và trình bày trong bài báo này bao gồm kết quả nghiên cứu hóa học (phân tích, phân lập và xác định cấu trúc hoá học) và kết quả bổ sung về đánh giá tác dụng ức chế α -glucosidase *in vitro* và *in silico*. Ginsenosid Rđ có tác dụng ức chế yếu α -glucosidase *in vitro* với giá trị IC₅₀ là 388,24 μ g/mL so với đối chứng dương acarbose có giá trị IC₅₀ là 129,81 μ g/mL. Tương tác của ginsenosid Rđ với α -glucosidase được phân tích bằng mô phỏng docking phân tử *in silico* với giá trị năng lượng liên kết tối ưu -8,1 kcal/mol trên cơ sở lực liên kết chính là liên kết hydro.

Từ khóa: Sâm Việt Nam, *Panax vietnamensis* Ha & Grushv., Araliaceae, Ginsenosid Rđ, Enzym α -glucosidase.