

ANALYZING THE FREQUENCY OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENE IN *SALMONELLA* AND DETERMINING POTENTIAL INHIBITORS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE PROTEIN BY VIRTUAL SCREENING

Ta Ngọc Ly*, Dinh Thi Hoai

Da nang University of Technology and Science - University of Da nang

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 09/8/2022	Antimicrobial resistance is a global public health concern. <i>Salmonella</i> is one of the microorganisms in which some resistant serotypes have emerged, affecting the food chain. Therefore, research to find new compounds with potential to inhibit antibiotic resistance <i>Salmonella</i> is urgently needed. This study aims to determine the frequency of antibiotic resistance genes appearing in the <i>Salmonella</i> genome isolated in Vietnam and to screen compounds with potential inhibiting antibiotic resistance related protein. Using bioinformatics tools, the analysis results showed that the AAC(6')-Iaa gene has the highest frequency in the studied samples. For virtual screening of bioactive compounds with potential to inhibit antibiotic resistance, molecular docking and pharmacokinetic properties prediction methods are used. The results of the screening process found 4 most potential compounds including KU-0058684, AdipoRon, BPIPP và CID 3447933. These compounds have high affinity to target proteins, suitable pharmacokinetic properties for drug formulation, and can be used as leading compounds in further drug development studies.
Revised: 19/10/2022	
Published: 21/10/2022	
KEYWORDS	
AAC(6') - Iaa	
Antimicrobial resistance	
Frequency	
Salmonella	
Virtual screening	

PHÂN TÍCH TẦN SỐ GEN KHÁNG KHÁNG SINH Ở *SALMONELLA* VÀ SÀNG LỌC HỢP ỨNG CHẾ KHÁNG KHÁNG SINH TIỀM NĂNG BẰNG CÔNG CỤ SÀNG LỌC ẢO

Ta Ngọc Ly*, Đinh Thị Hoài

Trường Đại học Bách khoa - ĐH Đà Nẵng

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 09/8/2022	Kháng kháng sinh là một mối quan tâm sức khỏe cộng đồng toàn cầu. <i>Salmonella</i> là một trong những vi sinh vật mà một số chủng huyết thanh kháng thuốc đã xuất hiện, ảnh hưởng đến chuỗi thức ăn. Do đó, nghiên cứu tìm ra các hợp chất mới có tiềm năng ức chế kháng kháng sinh là hết sức cần thiết. Nghiên cứu này nhằm xác định tần suất xuất hiện của gen kháng kháng sinh trong hệ gen <i>Salmonella</i> có nguồn gốc phân lập ở Việt Nam và sàng lọc các hợp chất có khả năng ức chế kháng kháng sinh. Sử dụng công cụ tin sinh học, kết quả phân tích cho thấy gen AAC(6') - Iaa có tần số xuất hiện cao nhất trong các mẫu nghiên cứu. Để sàng lọc ảo các hợp chất có hoạt tính sinh học có khả năng ức chế gen kháng kháng sinh này, các phương pháp lắp ráp phân tử và dự đoán đặc tính dược động học được sử dụng. Kết quả của quá trình sàng lọc đã tìm ra 4 hợp chất tiềm năng nhất bao gồm KU-0058684, AdipoRon, BPIPP và CID 3447933. Các hợp chất này có ái lực cao với protein đích, tính chất dược động học phù hợp để chế tạo thành thuốc, có thể được sử dụng làm hợp chất hàng đầu trong các nghiên cứu phát triển thuốc tiếp theo.
Ngày hoàn thiện: 19/10/2022	
Ngày đăng: 21/10/2022	
TỪ KHÓA	
AAC(6') - Iaa	
Kháng kháng sinh	
Tần suất	
Salmonella	
Sàng lọc ảo	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6344>

* Corresponding author. Email: tnly@dut.udn.vn

1. Giới thiệu

Kháng sinh đóng một vai trò quan trọng trong giảm tỷ lệ mắc bệnh và tử vong do các bệnh nhiễm khuẩn. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh cho người và động vật thường xuyên và quá mức gây ra các vấn đề sức khỏe lớn, bao gồm sự hiện diện của dư lượng kháng sinh trong mô cơ thể và các sản phẩm chăn nuôi; đặc biệt là sự kháng thuốc của mầm bệnh với thuốc kháng sinh. Hiện tượng vi khuẩn kháng kháng sinh (KKS) xuất hiện ngày càng phổ biến, không những ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe và kinh tế của người dân mà còn làm gia tăng tỷ lệ mắc các bệnh nhiễm trùng, đặc biệt là các bệnh nhiễm vi khuẩn đa kháng [1], [2]. Với tình trạng như hiện nay, KKS trở thành một trong những mối đe dọa sức khỏe quan trọng nhất hiện nay trên toàn cầu [2].

Salmonella là tác nhân gây bệnh hàng đầu cho con người qua con đường thực phẩm và là mối quan tâm đáng kể đối với sức khỏe cộng đồng trên toàn thế giới [3]. Chi *Salmonella* bao gồm nhiều loại vi khuẩn gram âm, hình roi gây ra khoảng 115 triệu ca nhiễm trùng ở người và 370.000 ca tử vong mỗi năm [4]. Việc điều trị bệnh do *Salmonella* gây ra ngày càng khó khăn do hiện tượng KKS xuất hiện ngày càng phổ biến [5].

Tỷ lệ kháng kháng sinh ngày càng tăng ở *Salmonella*. Tần suất gen kháng tetracycline trong số *Salmonella* spp. của các chủng phân lập từ các loại thịt khác nhau ở nhiều nước khác nhau được xác định từ 50 đến 76% [6]. Một số nghiên cứu còn ghi nhận tần suất *Salmonella* đề kháng với tetracycline cao hơn từ 80 đến 100% [7]. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn kháng sulfonamide trong các báo cáo thay đổi khá rộng từ 5,2 đến 100% với tần số trung bình là 57,4% [8], [9].

Các phương pháp tính toán sử dụng các ứng dụng tin sinh học đã trở thành một phần quan trọng của nhiều nghiên cứu khám phá thuốc, từ xác định hợp chất dẫn đầu, tối ưu hóa và dự đoán được động học [10]. Ý tưởng đằng sau sàng lọc ảo là kiểm tra các hợp chất bằng tính toán để giảm số lượng các hợp chất cần được sàng lọc bằng thực nghiệm, do đó giảm thời gian và chi phí của các thí nghiệm vật lý.

Việc xác định chính xác các gen KKS, đặc biệt là gen có tần suất xuất hiện cao là điều cần thiết để hiểu sự xuất hiện, phát triển của gen KKS cũng như phát triển các loại kháng sinh mới nhằm vào các gen KKS có tần suất xuất hiện cao. Các cơ chế sinh hóa của KKS như kháng enzym được coi là mục tiêu thuốc có giá trị để điều trị bổ sung các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích trình tự để tìm ra gen KKS có tần suất biến đổi cao nhất, từ đó xác định mục tiêu của quá trình sàng lọc ảo. Với định hướng khám phá tiềm năng của hợp chất từ tự nhiên, tạo thư viện các hợp chất tiềm năng kháng sinh và sàng lọc khả năng gắn kết của các hợp chất này với protein mục tiêu đã xác định ở bước trên. Các hợp chất tiềm năng nhất được tiếp tục kiểm tra tương tác và xác định các tính chất được động học.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu nhận dữ liệu bộ gen *Salmonella*

Dữ liệu bộ gen *Salmonella* công bố từ năm 2000 đến 2021 với địa điểm lấy mẫu là Việt Nam, được khai thác từ cơ sở dữ liệu của Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia Mỹ (NCBI).

2.2. Tìm kiếm gen kháng kháng sinh trong bộ gen

Công cụ ResFinder 4.1 được sử dụng để tìm kiếm sự hiện diện của gen KKS từ các bộ gen *Salmonella* đã thu nhận. Tần suất xuất hiện gen KKS được tính toán dựa trên số gen KKS phát hiện được trên tổng số bộ gen khảo sát.

2.3. Xây dựng thư viện các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế vi khuẩn

Bộ sưu tập 1454 hợp chất hoạt tính sinh học trong cơ sở dữ liệu Enamine (<https://enamine.net/>) và thư viện 500 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 KKS 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 bằng phần mềm Open Babel.

2.4. Mô phỏng và xác minh cấu trúc không gian 3D của protein mục tiêu

Do không có cấu trúc ba chiều của ACC(6')-Iaa từ vi khuẩn *Salmonella* trong ngân hàng dữ liệu protein (PDB), mô hình cấu trúc của ACC(6')-Iaa được xây dựng bằng cách sử dụng phương pháp tiếp cận mô hình so sánh tương đồng sử dụng chương trình MODELLER 9.22. Chất lượng của các cấu trúc mô hình được đánh giá bằng cách so sánh biểu đồ Ramachandran, điểm ERRAT, điểm xác minh verify3D bằng chương trình phân tích và xác minh cấu trúc SAVES (<https://servicesn.mbi.ucla.edu/SAVES/>)

2.5. Sàng lọc ảo và gắn kết phân tử

Quá trình sàng lọc ảo thực hiện theo qui trình đã công bố trước đây [11]. Cấu trúc 3D của protein mục tiêu là ACC (6')-Iaa sau khi được mô phỏng và xác minh sẽ 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 1954 hợp chất ứng cử viên với cấu trúc tinh thể của protein đích. Quá trình lắp ráp phân tử được tiến hành với các thông số tâm lưới tìm kiếm x: 25.7722, y:393201, z:39.1884, tối thiểu hóa năng lượng bằng phương pháp uff. Từ kết quả phân tích năng lượng gắn, các hợp chất có điểm năng lượng liên kết thấp nhất và nhỏ hơn - 10 Kcal/mol được xem xét để nghiên cứu thêm.

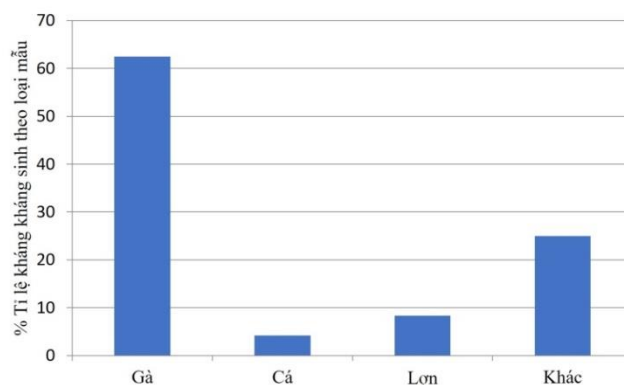
2.6. Dự đoán tính chất dược động học của các hợp chất tiềm năng

Tính chất dược động học của các hợp chất lựa chọn được dự đoán bằng công cụ SwissADME <http://www.swissadme.ch/index.php>. Công cụ SwissADME 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. Các cấu trúc SDF của các hợp chất được tải xuống từ PUBCHEM, được đưa vào máy chủ SwissADME và được chuyển đổi sang định dạng SMILES. Các ứng cử viên phù hợp gắn với protein ACC(6')-Iaa và cấu trúc của chúng được chuyển đổi thành định dạng PDB bằng cách sử dụng PyMOL. Chi tiết đặc điểm gắn kết của các hợp chất lựa chọn được với protein đích được phân tích bằng chương trình Ligplot +.

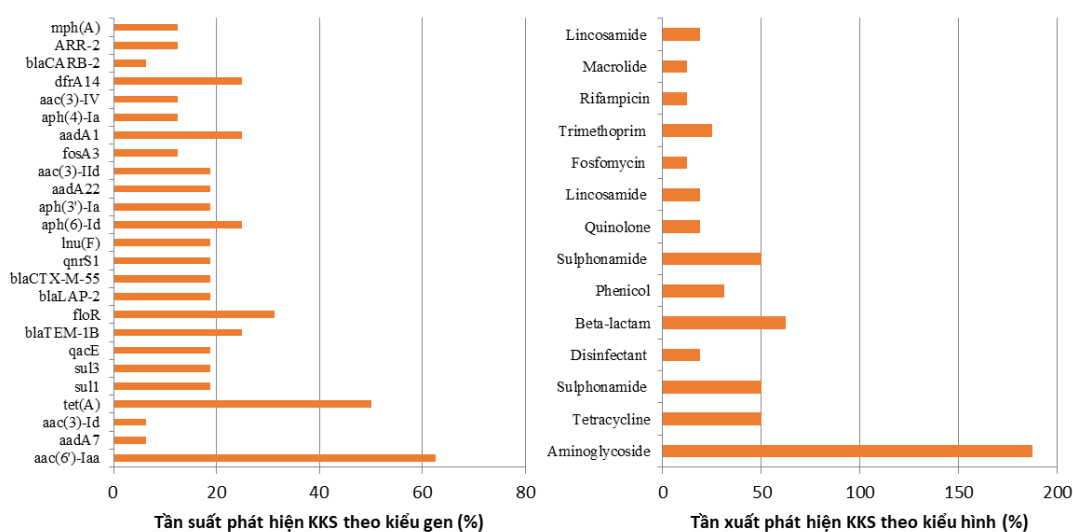
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân tích tần suất xuất hiện của gen kháng kháng sinh ở *Salmonella* trong các mẫu thu nhận tại Việt Nam

Trong tổng số 242 trình tự *Salmonella* được lấy mẫu từ Việt Nam được công bố từ năm 2001 đến năm 2021 trong cơ sở dữ liệu NCBI thì có 24 mẫu phân tích ghi nhận có gen KKS, tương ứng tỉ lệ 9,91%. Kết quả phân tích tần số xuất hiện gen KKS theo loại mẫu được thể hiện ở hình 1. Kết quả cho thấy trong số các mẫu phát hiện có gen KKS, hơn 60% là mẫu thịt gà, một số lượng ít là thịt lợn. Kháng kháng sinh ở mẫu cá ghi nhận rất thấp. Trong khảo sát năm 2015 ở Việt Nam, có đến 28 loại kháng sinh thuộc 10 nhóm đã được phát hiện trong thức ăn cho gà, 63% có chứa ít nhất 2 loại kháng sinh [12]. Tương tự, khảo sát 540 trang trại nuôi gà thì có đến 87,9% cho biết đã sử dụng chất kháng sinh trong quá trình sản xuất [13]. Việc chăn nuôi gà sử dụng quá nhiều kháng sinh có thể là nguyên nhân gây nên hiện tượng KKS. Nghiên cứu trên cũng chỉ ra tỉ lệ lớn trang trại nuôi lợn sử dụng kháng sinh, tuy nhiên phân tích tần số xuất hiện gen KKS dựa trên bộ gen ở nghiên cứu này chỉ ra số lượng thấp các mẫu phát hiện có KKS, điều này có thể lí giải là do số mẫu thịt lợn được lấy phân tích thấp hơn nhiều so với mẫu thịt gà. Kết quả phân tích kiểu gen của các mẫu có ghi nhận KKS được thể hiện ở hình 2.



Hình 1. Tần số xuất hiện gen KKS trong *Salmonella* được thu nhận tại Việt Nam theo loại mẫu



Hình 2. Tần suất xuất hiện gen KKS trong *Salmonella* được thu nhận tại Việt Nam theo kiểu gen và kiểu hình

Phân tích kiểu gen của các mẫu có ghi nhận KKS cho thấy, trong các mẫu thu nhận xuất hiện rất nhiều gen KKS. Các nghiên cứu trước đây đã phát hiện *Salmonella* có tỷ lệ đề kháng cao với tetracycline và sulfonamide [14]. Các gen KKS trên đảo kháng nhiễm sắc thể như blaTEM, strA-strB, sul2 và tetB được tìm thấy ở nhiều chủng *salmonella* [15], [16]. Các gen kháng tetracycline được phát hiện thường xuyên nhất từ *Salmonella* là tetA và tetB [16]. Gen sul1 và sul2 là những gen kháng sulfonamide thường xuyên nhất hiện diện ở *Salmonella* [17]. Các gen kháng fluoroquinolone qnrS1 và AAC(6')Ib-cr cũng được phát hiện [18]. Các gen kháng β -lactamase như blaCTX-M-1, blaCTX-M-14 và gen kháng colistin qua trung gian plasmid như mcr-1 and mcr-3 cũng được báo cáo phát hiện trong salmonella [19], [14]. Gen yfhPin và soxR kháng carvacrol được phát hiện trong *S. Typhimurium* [20]. Nghiêm trọng hơn, hầu hết các nghiên cứu chỉ ra rằng, phần lớn các mẫu kháng là kháng đa thuốc. Các chủng *Salmonella* mang các gen kháng được tập hợp trong quá trình chuyển vị tổng hợp như catA, sul1, sul2, dfrA, blaTEM-1, strB, tetA, tetB, tetC và tetD [2], [12], [15], [21]. Gen KKS xuất hiện với tần suất cao nhất là AAC (6')-Iaa với hơn 50% số mẫu xuất hiện. Các gen khác như Tet(A), floR, dfrA14 và blaTem cũng xuất hiện với tần số khá cao, tương ứng 37, 29 và 29%. Các gen aadA7, aaDA27, cat A1 mã hóa cho vùng mã hóa integron của gen KKS aminoglycoside nucleotidyltransferase có tần suất thấp nhất. Phân tích theo kiểu hình cho thấy, tần số xuất hiện gen kháng với Aminoglycoside là cao nhất 36%, beta-lactam là 19%, tetracycline và penicil thấp hơn, tương ứng 8 và 6,4%. Như

vậy, AAC (6')-Iaa là gen KKS có tần suất xuất hiện cao nhất. Đây là gen qui định khả năng kháng với các kháng sinh aminoglycoside như kanamycin, tobramycin, amikacin và gentamicin qua trung gian của các enzym làm thay đổi các loại thuốc đó bằng cách acetyl hóa, adenyl hóa hoặc phosphoryl hóa. Các enzyme AAC (6') bất hoạt cơ chất bằng cách acetyl hóa các aminoglycoside ở vị trí 6'.

3.2. Sàng lọc ảo hợp chất giống thuốc có tiềm năng ức chế KKS

Để có thể tiến hành sàng lọc các chất có tiềm năng kháng ACC (6')-Iaa, thông tin cấu trúc ba chiều của enzym này cần được xác định. Hiện tại, chưa có cấu trúc xác định bằng thực nghiệm công bố, do đó chúng tôi tiến hành mô phỏng cấu trúc enzym này dựa trên trình tự chuỗi peptide mã hóa gen AAC(6')-Iaa. Kết quả phân tích tương đồng bằng chương trình Blastp cho thấy trình tự gen AAC(6')-Iaa trong các mẫu phân tích tương đồng 100% với cryptic aminoglycoside N-acetyltransferase AAC(6')-Iy/Iaa của Salmonella từ cơ sở dữ liệu NCBI. Sử dụng trình tự này, chúng tôi mô phỏng cấu trúc của protein mã hóa cho AAC(6')-Iaa bằng chương trình Swiss modeller.

Bảng 1. Các hợp chất có năng lượng liên kết với protein đích thấp nhất

STT	Tên hợp chất	Năng lượng gắn (Kcal/mol)
1	21582613	-11,8
2	5-(4-Pyridinyl)-N-[2-[4-(2-pyridinylmethyl)-1-piperazinyl]-5-(trifluoromethyl)phenyl]-2-furancarboxamide	-10,8
3	122724	-10,6
4	KU-0058684	-10,4
5	7-[[[(6-methylpyridin-2-yl)amino][4-(trifluoromethyl)phenyl]methyl}quinolin-8-ol	-10,3
6	Dactolisib	-10,3
7	N-(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)-4-(1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-yl)butanamide	-10,3
8	Q-203	-10,3
9	Rifampicin	-10,3
10	AdipoRon	-10,1
11	Brequinar	-10,1
12	NP118809	-10,1
13	BPIPP	-10
14	GSK_572016_Lapatinib	-10
15	CID 3447933	-10

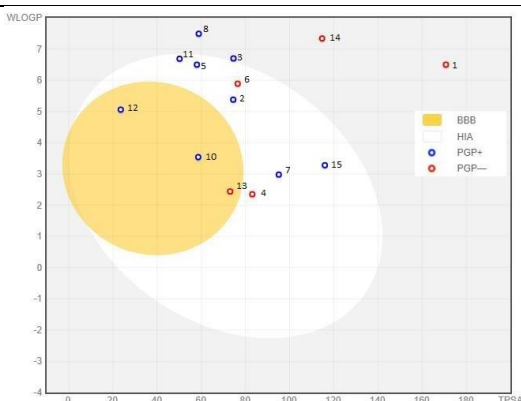
Kết quả mô phỏng thu nhận được mô hình 3D của protein mã hóa từ gen AAC (6')-Iaa, dựa trên khuôn mẫu là 1S5K với GMQE là 0,92 và Qmean là 0,88. 1S5K là cấu trúc Aminoglycoside N-Acetyltransferase AAC(6')-Iy trong phức hợp với CoA, có độ phân giải 2,40 Å. Biểu đồ Ramachandran đánh giá hóa học lập thể của protein bằng cách phân tích sự phân bố các góc nhị diện xương sống (ϕ và ψ) của từng gốc axit amin cho thấy rằng, tổng số dư lượng ở các vùng được ưa chuộng nhất lần lượt là 90% và 95,5% và không có dư lượng nào được tìm thấy ở các vùng không được phép. Các giá trị ERRAT cung cấp số liệu thống kê về các tương tác không liên kết giữa các loại nguyên tử khác nhau được tìm thấy là 70,3968 và 79,433. Điểm Verify_3D xác định khả năng tương thích của cấu trúc 3D với trình tự axit amin của nó là 95,52% và 91,49% đối với ACC(6')-Iaa và mẫu của nó tương ứng. Các thông số mô phỏng đều cho thấy mô hình xây dựng bằng Swiss modeller có chất lượng tốt, có thể dùng làm cấu trúc đích để tiến hành nghiên cứu lắp ráp phân tử. Sử dụng Autodock vina trên nền tảng Pyrx, chúng tôi tiến hành lắp ráp phân tử với 1945 hợp chất hoạt tính sinh học từ bộ sưu tập. Để kiểm tra phương pháp lắp ráp phân tử, chúng tôi sử dụng các kháng sinh kháng Aminoglycoside đã biết như gentamicin,

amikacin, tobramycin làm chất chuẩn để xác định năng lượng liên kết với mục tiêu. Kết quả cho thấy các kháng sinh này đều có mức năng lượng gắn với protein đích thấp, tương ứng -7,4, -8,0 và -8,2 Kcal/mol. Để quá trình sàng lọc có độ tin cậy cao, chúng tôi quyết định chọn mức năng lượng gắn nhỏ hơn -10 Kcal/mol làm mức tiêu chuẩn sàng lọc. Kết quả lắp ráp phân tử 1945 hợp chất tìm được 15 hợp chất có năng lượng gắn thấp hơn 10,0 Kcal/mol như Bảng 1.

Để tiếp tục sàng lọc hợp chất tiềm năng, chúng tôi sử dụng công cụ SWISS-ADME dự đoán các thông số bao gồm đặc tính dược động học, bản chất giống thuốc và tính thân thiện với hóa học thuốc của một hoặc nhiều phân tử nhỏ để hỗ trợ việc khám phá thuốc [22]. Kết quả phân tích thuộc tính dược động học thể hiện ở Hình 3 và Bảng 2. Trong đó, các chấm màu xanh lam cho biết các phân tử được dự đoán là bị đẩy ra khỏi thần kinh trung ương bởi P-glycoprotein và các chấm màu đỏ cho biết các phân tử được dự đoán là không bị đào thải. Biểu đồ cho thấy chỉ có hợp chất AdipoRon, NP118809 và BPIPP có thể vận chuyển thụ động qua rào chắn ở não (nằm trong vùng màu vàng -BBB). Hầu hết các chất còn lại có thể hấp thụ qua đường tiêu hóa (vùng màu trắng-HIA). Có 4 hợp chất thỏa mãn các quy tắc về tính giống thuốc theo nhiều đề xuất khác nhau của Lipinski, Ghose, Veber, Egan và Muegge bao gồm KU-0058684, AdipoRon, BPIPP và CID 3447933. Các hợp chất này cũng ít vi phạm các tính chất của hợp chất dẫn đầu và có chỉ số hoạt tính sinh học tương đối tốt. Chúng tôi lựa chọn 4 hợp chất này để tiếp tục phân tích kiểm tra tương tác với protein mục tiêu.

Bảng 2. Phân tích tính giống thuốc của các hợp chất mục tiêu

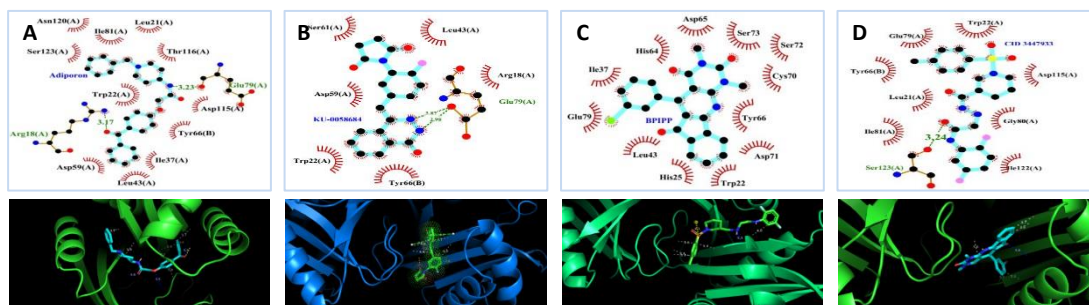
Hợp chất	Số tính chất vi phạm theo quy tắc Lipinski	Điểm số giống chất dẫn đầu	Điểm hoạt tính sinh học
1	1	2	0,55
2	1	3	0,55
3	1	2	0,85
4	0	1	0,55
5	0	2	0,55
6	0	2	0,55
7	0	1	0,55
8	1	3	0,55
9	3	2	0,17
10	0	3	0,55
11	0	2	0,85
12	1	3	0,55
13	0	1	0,55
14	1	3	0,55
15	0	2	0,55



Hình 3. Biểu đồ BOILED-Egg phân tích khả năng vận chuyển của các chất mục tiêu

3.3. Kiểm tra tương tác giữa các hợp chất tiềm năng và protein đích

Kết quả phân tích tương tác giữa 4 hợp chất tiềm năng được lựa chọn bằng chương trình phân tích tương tác protein và phối tử Ligplot + và hình ảnh cấu trúc 3D của tương tác này thể hiện bằng chương trình Pymol ở Hình 4.



Hình 4. Phân tích tương tác giữa các chất lựa chọn với protein mục tiêu bằng Ligplot+ và trình diễn tương tác bằng Pymol

Kết quả thể hiện sự gắn kết chặt chẽ giữa các hợp chất lựa chọn và protein đích bằng liên kết kỵ nước và liên kết hydro. Số lượng liên kết và khoảng cách tối thiểu của các tương tác này được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Phân tích tương tác giữa 4 hợp chất lựa chọn với protein đích

	Adiporon	BPIPP	KU-0058684	CID 3447933
Số tương tác kỵ nước	8	5	7	5
Số liên kết hydro	3	1	3	1
Cầu muối	0	0	0	1
Khoảng cách trung bình tương tác kỵ nước ($\text{\AA}$)	3,43	3,49	3,42	3,67
Khoảng cách trung bình liên kết hydro	2,88	3,12	2,61	2,36

Như vậy, Adiporon và KU-0058684 có số tương tác kỵ nước và liên kết hydro với protein mục tiêu nhiều hơn 2 hợp chất còn lại và khoảng cách trung bình của các tương tác cũng ngắn hơn. Đặc biệt, hợp chất CID 3447933 tạo cầu muối tại axit amin số 115 (ASP).

AdipoRon là một chất chủ vận phân tử nhỏ tổng hợp có chọn lọc, hoạt động bằng đường uống của thụ thể adiponectin 1 (AdipoR1) và thụ thể adiponectin 2 (AdipoR2). AdipoRon đã thu hút sự quan tâm như các liệu pháp tiềm năng cho bệnh béo phì, tiểu đường, bệnh tim mạch, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu và toàn cảnh các bệnh lý khác. Nghiên cứu của Yosuke Masamoto và cộng sự chỉ ra hoạt tính kháng khuẩn của AdipoRon [23].

KU-0058684 là một chất ức chế PARP và DNA-PK mạnh. Thuốc ức chế PARP là một loại thuốc điều trị ung thư. Các chất ức chế PARP hoạt động bằng cách ngăn chặn các tế bào ung thư sửa chữa, cho phép chúng chết. Những loại thuốc này là một loại liệu pháp nhắm mục tiêu.

BPIPP là một chất ức chế không cạnh tranh của guanylyl và adenylyl cyclase ngăn chặn sự tích tụ cGMP. Đây là chất có hoạt tính kháng sinh đang được quan tâm nghiên cứu.

Hợp chất có mã số CID 3447933 được xác định là có tiềm năng ức chế AmpC Beta-Lactamase thông qua thử nghiệm hoạt tính. Chất ức chế KKS là những hợp chất có thể làm tăng hiệu quả của các loại thuốc kháng sinh hiện nay bằng cách chống lại các cơ chế đề kháng được sử dụng chống lại chúng.

Kết quả sàng lọc của chúng tôi chỉ ra rằng, 4 hợp chất KU-0058684, AdipoRon, BPIPP và CID 3447933 có khả năng gắn với protein mã hóa cho gen ACC(6')-Iaa, là một gen tham gia tính KKS của vi khuẩn. Như vậy, ngoài các tính chất đã biết đến, nghiên cứu này gợi ý rằng có thể sử dụng các chất trên như là chất ức chế KKS. Các chất này có thể có hoặc không có tác dụng kháng khuẩn trực tiếp và có thể được sử dụng đồng thời hoặc kết hợp với kháng sinh. Các nhóm chất ức chế KKS chính hiện đang được nghiên cứu bao gồm chất ức chế enzym, chất làm bền màng và chất

ức chế bơm dòng chảy. Một số hợp chất như BPIPP và CID 3447933 được báo cáo là có hoạt tính kháng sinh nếu có thể thêm hoạt tính ức chế KKS sẽ là một loại kháng sinh mới rất tiềm năng.

4. Kết luận

KKS đang là vấn đề cấp bách hiện nay, vì thế tìm kiếm chất ức chế khả năng KKS là nhiệm vụ nghiên cứu hết sức cần thiết. Nghiên cứu sử dụng các công cụ tin sinh học nhằm xác định gen KKS có tần suất cao và tìm kiếm chất ức chế KKS mới. Nghiên cứu đã xác định được gen KKS có tần suất xuất hiện cao nhất trong bộ gen *Salmonella* thu nhận từ mẫu thịt gà là gen mã hóa cho enzyme aminoglycoside N-acetyltransferase. Sàng lọc với 1945 hợp chất hoạt tính sinh học đã lựa chọn được 15 hợp chất có khả năng liên kết mạnh với AAC (6')-Iaa; trong đó có 4 chất là KU-0058684, AdipoRon, BPIPP và CID 3447933 đáp ứng các yêu cầu để phát triển thành chất dẫn đầu trong nghiên cứu phát triển thuốc. Nghiên cứu này là cơ sở để tiến hành các nghiên cứu thực nghiệm tìm kiếm hợp chất ức chế khả năng KKS của *Salmonella* và các chủng vi sinh vật khác có mang gen AAC (6')-Iaa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] J. O.' Neill, "Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations The Review on Antimicrobial Resistance Chaired," 2014. [Online]. Available: <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>. [Accessed Aug. 12, 2022].
- [2] World Health Organization, "Antimicrobial resistance - global report on surveillance," *World Heal. Organ.*, vol. 61, no. 3, pp. 383-394, 2014.
- [3] O. Ehuwa, A. K. Jaiswal, and S. Jaiswal, "Salmonella, Food Safety and Food Handling Practices," *Foods*, vol. 10, no. 5, 2021, doi: 10.3390/foods10050907.
- [4] S. E. Majowicz *et al.*, "The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis," *Clin. Infect. Dis. an Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 50, no. 6, pp. 882-889, Mar. 2010, doi: 10.1086/650733.
- [5] O. O. Ikimiukor, E. E. Odih, P. Donado-Godoy, and I. N. Okeke, "A bottom-up view of antimicrobial resistance transmission in developing countries," *Nat. Microbiol.*, vol. 7, no. 6, pp. 757-765, 2022, doi: 10.1038/s41564-022-01124-w.
- [6] Ł. Mąka and M. Popowska, "Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from food," *Rocz. Panstw. Zakł. Hig.*, vol. 67, no. 4, pp. 343-358, 2016.
- [7] W. Deng *et al.*, "Antibiotic Resistance in *Salmonella* from Retail Foods of Animal Origin and Its Association with Disinfectant and Heavy Metal Resistance," *Microb. Drug Resist.*, vol. 24, no. 6, pp. 782-791, 2018, doi: 10.1089/mdr.2017.0127.
- [8] Y. Xu, X. Zhou, Z. Jiang, Y. Qi, A. Ed-Dra, and M. Yue, "Epidemiological Investigation and Antimicrobial Resistance Profiles of *Salmonella* Isolated From Breeder Chicken Hatcheries in Henan, China," *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 10, p. 497, 2020, doi: 10.3389/fcimb.2020.00497.
- [9] A. Z. Moe *et al.*, "Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Isolates from Chicken Carcasses in Retail Markets in Yangon, Myanmar," *J. Food Prot.*, vol. 80, no. 6, pp. 947-951, Jun. 2017, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-407.
- [10] X. Xia, "Bioinformatics and Drug Discovery," *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 17, no. 15, pp. 1709-1726, 2017, doi: 10.2174/1568026617666161116143440.
- [11] N. L. Ta and T. A. T. Nguyen, "Identification of mpro potential inhibitors of Sars-Cov-2 from the database of Vietnam herb," *TNU J. Sci. Technol.*, vol. 227, no. 01, pp. 10-18, 2021, doi: 10.34238/tnu-jst.5206.
- [12] J. J. Carrique-Mas *et al.*, "Antimicrobial usage in chicken production in the Mekong Delta of Vietnam," *Zoonoses Public Health*, vol. 62, Suppl 1, pp. 70-78, Apr. 2015, doi: 10.1111/zph.12165.
- [13] Q. H. Luu, T. L. A. Nguyen, T. N. Pham, N. G. Vo, and P. Padungtod, "Antimicrobial use in household, semi-industrialized, and industrialized pig and poultry farms in Viet Nam," *Prev. Vet. Med.*, vol. 189, p. 105292, 2021, doi: 10.1016/j.prevetmed.2021.105292.
- [14] A. B. Portes, G. Rodrigues, M. P. Leitão, R. Ferrari, C. A. Conte Junior, and P. Panzenhagen, "Global distribution of plasmid-mediated colistin resistance mcr gene in *Salmonella*: A systematic review," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 132, no. 2, pp. 872-889, Feb. 2022, doi: 10.1111/jam.15282.

- [15] K. L. Hopkins *et al.*, "Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Europe: a new pandemic strain?," *Euro Surveill. Bull. Eur. sur les Mal. Transm. = Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 15, no. 22, p. 19580, Jun. 2010.
- [16] C. Lucarelli *et al.*, "Evidence for a second genomic island conferring multidrug resistance in a clonal group of strains of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and its monophasic variant circulating in Italy, Denmark, and the United Kingdom," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 48, no. 6, pp. 2103-2109, Jun. 2010, doi: 10.1128/JCM.01371-09.
- [17] Ł. Mąka, E. Maćkiw, H. Ścieżyńska, M. Modzelewska, and M. Popowska, "Resistance to Sulfonamides and Dissemination of sul Genes Among *Salmonella* spp. Isolated from Food in Poland," *Foodborne Pathog. Dis.*, vol. 12, no. 5, pp. 383-389, May 2015, doi: 10.1089/fpd.2014.1825.
- [18] A. Arnott *et al.*, "Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* 4,[5],12:i:- Sequence Type 34, New South Wales, Australia, 2016-2017," *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 24, no. 4, pp. 751-753, Apr. 2018, doi: 10.3201/eid2404.171619.
- [19] I. Rodríguez, S. Jahn, A. Schroeter, B. Malorny, R. Helmuth, and B. Guerra, "Extended-spectrum β -lactamases in German isolates belonging to the emerging monophasic *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium 4,[5],12:i:- European clone.," *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, vol. 67, no. 2, pp. 505-508, Feb. 2012, doi: 10.1093/jac/dkr452.
- [20] D. Berdejo, N. Merino, E. Pagán, D. García-Gonzalo, and R. Pagán, "Genetic variants and phenotypic characteristics of *salmonella typhimurium*-resistant mutants after exposure to carvacrol," *Microorganisms*, vol. 8, no. 6, pp. 1-22, 2020, doi: 10.3390/microorganisms8060937.
- [21] E. A. McMillan *et al.*, "Antimicrobial Resistance Genes, Cassettes, and Plasmids Present in *Salmonella enterica* Associated With United States Food Animals," *Front. Microbiol.*, vol. 10, p. 832, 2019, doi: 10.3389/fmicb.2019.00832.
- [22] M. B. Sadiq, J. Tarning, T. Z. Aye Cho, and A. K. Anal, "Antibacterial Activities and Possible Modes of Action of *Acacia nilotica* (L.) Del. against Multidrug-Resistant *Escherichia coli* and *Salmonella*," *Molecules*, vol. 22, no. 1, Jan. 2017, doi: 10.3390/molecules22010047.
- [23] P. G. Vital, M. B. D. Caballes, and W. L. Rivera, "Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. isolates from fresh produce and the impact to food safety," *J. Environ. Sci. Heal. Part. B, Pestic. food Contam. Agric. wastes*, vol. 52, no. 9, pp. 683-689, Sep. 2017, doi: 10.1080/03601234.2017.1331676.