

NGHIÊN CỨU *IN SILICO* KHẢ NĂNG ỨC CHẾ VI KHUẨN HÔ HẤP (*Streptococcus pneumoniae*) CỦA MỘT SỐ ACID BÉO VÀ DẪN XUẤT ESTER

Nguyễn Thị Thanh Hải¹, Trần Quang Huy¹, Nguyễn Đại Châu¹, Bùi Quang Thành¹, Phạm Văn Vinh¹,
Nguyễn Vĩnh Phú², Nguyễn Công Kính⁴, Phan Tứ Quý³, Nguyễn Thị Ái Nhung^{1*}

¹ Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, Huế, Việt Nam

² Khoa Cơ bản, Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế, Huế, Việt Nam

³ Khoa Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

⁴ Khoa Khoa học Tự Nhiên, Trường Đại học Tây Nguyên, Buôn Ma Thuột, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Nguyễn Thị Ái Nhung <ntanhung@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 11-05-2025; Hoàn thành phản biện: 18-06-2025; Ngày chấp nhận đăng: 01-07-2025)

Tóm tắt. Một số acid béo và dẫn xuất ester được chọn để nghiên cứu: Myristic acid (C1), Palmitic acid (C2), Pentadecanoic acid (C3), Linoleic acid (C4), Ethyl palmitate (C5), Methyl linoleate (C6) và Ethyl linoleate (C7) cho tính toán *in silico* về ức chế vi khuẩn hô hấp (*Streptococcus pneumoniae*). Các phương pháp tính toán, mô phỏng được sử dụng để đánh giá tiềm năng ức chế của các hợp chất nghiên cứu với protein Q8DQF8. Kết quả mô phỏng docking phân tử đã xác định được vị trí 1, 2 và 3 là vị trí tối ưu cho quá trình docking phân tử khi nghiên cứu tương tác giữa ligand (C1-C7) và protein Q8DQF8 thông qua năng lượng ức chế DS (kcal.mol⁻¹), chỉ số RMSD, số liên kết chính và tương tác van der Waals. Kết quả chỉ ra rằng các hợp chất C1-C7 có khả năng ức chế protein Q8DQF8 theo thứ tự sau: C6 (-11,3 kcal.mol⁻¹) > C3 (-10,9 kcal.mol⁻¹) > C5 (-10,7 kcal.mol⁻¹) > C4 (-9,4 kcal.mol⁻¹) > C2 (-9,0 kcal.mol⁻¹) > C1 (-8,7 kcal.mol⁻¹) > C7 (-8,6 kcal.mol⁻¹). Kết quả mô phỏng động lực học phân tử của các chất có năng lượng ức chế tốt C3, C5 và C6 với protein Q8DQF8 cho thấy các phức hợp đều khá ổn định và tương tác tốt với protein Q8DQF8, trong đó hợp chất C3 có khả năng tương tác tốt nhất. Kết quả nghiên cứu *in silico* định hướng cho thực nghiệm để phát triển các phương pháp mới hỗ trợ điều trị bệnh về đường hô hấp.

Từ khóa: Acid béo, dẫn xuất ester, protein Q8DQF8, *Streptococcus pneumoniae*, *in silico*

In silico study of the inhibitory ability of fatty acids and ester derivatives against *Streptococcus pneumoniae*

Nguyen Thi Thanh Hai¹, Tran Quang Huy¹, Nguyen Dai Chau¹, Thanh Q. Bui¹, Pham Van Vinh¹,
Nguyen Vinh Phu², Nguyen Cong Kinh³, Phan Tu Quy⁴, Nguyen Thi Ai Nhung^{1*}

¹ Department of Chemistry, University of Sciences, Hue University, Hue, Viet Nam

² Faculty of Basic Sciences, University of Medicine and Pharmacy, Hue University, Hue, Viet Nam

³ Department of Pharmacy, Duy Tan University, Da Nang, Viet Nam

⁴ Department of Natural Sciences & Technology, Tay Nguyen University, Buon Ma Thuot, Viet Nam

* Correspondence to Nguyen Thi Ai Nhung <ntanhung@hueuni.edu.vn>

(Received: 11 May 2025; Revised: 18 June 2025; Accepted: 01 July 2025)

Abstract. Some fatty acids and ester derivatives: Myristic acid (C1), Palmitic acid (C2), Pentadecanoic acid (C3), Linoleic acid (C4), Ethyl palmitate (C5), Methyl linoleate (C6) and Ethyl linoleate (C7) were studied *in silico* to inhibit respiratory bacteria (*S. pneumoniae*). Computational approaches were utilised to evaluate the potentiality of these compounds against protein Q8DQF8. The positions 1, 2 and 3 have been identified as the optimal sites for the docking process and docking-based simulation predicts the most effective ligand-Q8DQF8 inhibitory systems to the order: C6 (-11,3 kcal.mol⁻¹) > C3 (-10,9 kcal.mol⁻¹) > C5 (-10,7 kcal.mol⁻¹) > C4 (-9,4 kcal.mol⁻¹) > C2 (-9,0 kcal.mol⁻¹) > C1 (-8,7 kcal.mol⁻¹) > C7 (-8,6 kcal.mol⁻¹). Molecular dynamics simulations for C3, C5 and C6 compounds showed that the C3 exhibiting the best interaction with the Q8DQF8 protein. Present results will guide experimental research toward developing new methods to support the treatment of respiratory diseases.

Keywords: Fatty acid, ester derivatives, protein Q8DQF8, *Streptococcus pneumoniae*, *in silico*

1 Mở đầu

Trong những năm gần đây, do tình trạng lạm dụng thuốc kháng sinh trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn, viêm hay rối loạn chuyển hóa đã dẫn đến tình trạng kháng thuốc gia tăng, làm giảm hiệu quả điều trị. Việc phát triển các hợp chất kháng khuẩn và ức chế virus mới gặp nhiều khó khăn, nhưng hướng tìm kiếm các kháng sinh tự nhiên được xem là hướng đi tiềm năng để thay thế và cải tiến thuốc hiện hành [1,2].

Hợp chất thiên nhiên luôn là nguồn được chất quan trọng trong quá trình phát triển thuốc điều trị bệnh nói chung và thuốc kháng vi khuẩn nói riêng. Các acid béo và dẫn xuất của chúng là những hợp chất tự nhiên có tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong y học và dược phẩm [3]. Trong đó các acid béo Myristic acid (acid tetradecanoic), Palmitic acid (acid hexadecanoic), và Pentadecanoic acid là các acid béo bão hòa thường có trong dầu dừa, dầu cọ, mỡ động vật và sữa động vật [4]. Những hợp chất này không chỉ đóng vai trò thiết yếu trong cấu trúc và chức năng màng tế bào mà còn được biết đến với khả năng kháng khuẩn thông qua việc phá vỡ màng tế bào vi khuẩn [5]. Ngoài ra, Linoleic acid (acid 9,12-octadecadienoic), một acid béo không bão hòa thuộc nhóm omega-6, có trong dầu thực vật như dầu đậu nành và dầu hướng dương, nổi bật với đặc tính chống viêm và tăng cường hệ miễn dịch [6,7]. Bên cạnh các acid béo tự nhiên, các dẫn xuất ester của chúng như Ethyl palmitate, Methyl

linoleate và Ethyl linoleate không chỉ là thành phần dinh dưỡng quan trọng mà còn có nhiều đặc tính sinh học, bao gồm khả năng chống viêm và hỗ trợ tái tạo mô [8,9].

Nhiễm khuẩn hô hấp là một vấn đề y tế phổ biến trên toàn cầu, đồng nghĩa với việc cơ quan hô hấp bị tổn thương do vi khuẩn xâm nhập. *Streptococcus pneumoniae* (khuẩn hô hấp) là một vi khuẩn gram dương, ngoại bào, xâm chiếm bề mặt niêm mạc đường hô hấp trên của con người [10]. Bệnh phế cầu khuẩn gây ra bởi *S. pneumoniae* là một bệnh lý phổ biến và thường là nhiễm trùng nhẹ, nhưng đôi khi có thể dẫn đến các vấn đề về sức khỏe nghiêm trọng như: nhiễm trùng máu, viêm phổi hoặc viêm màng não [11]. Thông thường, một người sẽ hồi phục sau khi bị nhiễm phế cầu khuẩn không xâm lấn mà không cần điều trị. Tuy nhiên, trong một số trường hợp có thể phải dùng kháng sinh để ngăn ngừa biến chứng xảy ra [12]. Có tới 27 – 65 % trẻ em và < 10 % người trưởng thành có mang mầm *S. pneumoniae* và lây truyền liên quan đến mối quan hệ giữa vi khuẩn và vật chủ qua hơi thở hoặc nhiễm trùng máu [13–15].

Protein Q8DQF8 của vi khuẩn *S. pneumoniae* là một protein thuộc họ protein vận chuyển ATP và có vai trò quan trọng trong quá trình sinh lý và bảo vệ vi khuẩn [16]. Thông qua việc nghiên cứu các hợp chất mới để ức chế nhắm vào protein Q8DQF8 sẽ mở ra các liệu pháp mới hỗ trợ kiểm soát và điều trị bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn *S.*

pneumoniae gây ra. Cấu trúc tinh thể của protein Q8DQF8 (Hình 1) được xác định thông qua ngân hàng protein với mã UniProtKB: Q8DQF8 (Q8DQF8_STRR6).

Dựa vào những phân tích trên, trong nghiên cứu này chúng tôi sẽ sử dụng phương pháp orbital liên kết tự nhiên (Natural bond orbital – NBO) để phân tích cấu trúc HOMO và LUMO của các hợp chất nghiên cứu. Ngoài ra sử dụng phương pháp lắp ghép phân tử (docking) để dự đoán năng lượng lắp ghép và sự tương tác giữa các hợp chất nghiên cứu với protein Q8DQF8 thông qua phần mềm MOE 2022.10. Các vị trí tiếp cận của các chất nghiên cứu với protein Q8DQF8 được khảo sát và sàng lọc từ đó tìm ra được vị trí thuận lợi nhất cho quá trình ức chế. Từ đó tiến hành mô phỏng và đánh giá các quá trình ức chế thông qua các giá trị năng lượng docking (DS) và độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) cũng như các tương tác khác như liên kết hydro, liên kết cation- π , π - π và tương tác ion, liên kết và tương tác van der Waals giữa các hợp chất nghiên cứu với protein Q8DQF8.



Hình 1. Cấu trúc protein Q8DQF8 của vi khuẩn *S. pneumoniae*

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Cấu trúc tối ưu và tính chất đặc trưng của các thuốc theo tính toán hóa lượng tử

Cấu trúc hình học phân tử của các hợp chất nghiên cứu được tối ưu hóa bằng phần Gaussian 09 tại mức lý thuyết M05-2X/6311++G(d,p) [17,18]. Sau đó, các thông số lượng tử được xác định bằng phương pháp orbital liên kết tự nhiên (NBO) dựa trên bộ hàm cơ sở def2-TZVPP [19]. Giải pháp phân giải đồng nhất gần đúng (resolution-of-identity - RI) được áp dụng cho mỗi quá trình tối ưu.

Phân tích orbital biên cung cấp thông tin về hình dạng của các orbital phân tử và năng lượng của chúng. Các tính toán này có thể được tiến hành bằng ứng dụng NBO 5.1 trong phần mềm Gaussian 09 ở mức lý thuyết M05-2X/def2-TZVPP [20]. Các thông tin về mật độ electron có thể được đánh giá bằng các phân tích liên kết. Trong đó, mức năng lượng HOMO (highest occupied molecular orbital) E_{HOMO} đại diện xu hướng cho electron liên phân tử; ngược lại, mức năng lượng LUMO (highest occupied molecular orbital) E_{LUMO} có thể được đánh giá như là giá trị đại diện cho khả năng nhận electron liên phân tử. Năng lượng vùng cấm $\Delta E = E_{HOMO} - E_{LUMO}$ có thể được xem như là một thông số cho khả năng tương tác liên phân tử bởi vì nó cho biết xu hướng chuyển dịch của electron có thể được kích thích lên mức năng lượng cao hay không, đồng nghĩa với việc có khả năng rời khỏi phân tử hay không. Năng lượng ion hóa (ionisation potential, I) và ái lực electron (electron affinity, A) được tính toán thông qua định lý Koopmans' [21,22] $I = -E_{HOMO}$ và $A = -E_{LUMO}$. Các số liệu này được sử dụng để tính độ âm điện (electronegativity, χ) của toàn phân tử. Đối với N- hệ thống electron có tổng năng lượng điện tử (E) và thế năng ngoài $v(r)$, độ âm điện (χ) được định nghĩa là âm của thế năng (μ) [23,24].

$$\chi = -\mu = -\left(\frac{\partial E}{\partial N}\right)_{v(r)} \quad (1)$$

và độ cứng (η) được định nghĩa là:

$$\eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(r)} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial^2 N} \right)_{v(r)} \quad (2)$$

Độ cứng và độ âm điện của các chất ức chế có thể được xấp xỉ bằng cơ sở của xấp xỉ sai phân hữu hạn như sau:

$$\eta = \frac{1}{2} (I - A) \quad (3)$$

$$\chi = \frac{1}{2} (I + A) \quad (4)$$

Độ mềm (S) được định nghĩa là nghịch đảo với độ cứng tuyệt đối (η):

$$S = \frac{1}{\eta} = \left(\frac{\partial N}{\partial \mu} \right)_{v(r)} \quad (5)$$

2.2 Mô phỏng docking phân tử

Sử dụng phương pháp docking phân tử để dự đoán năng lượng docking và tương tác giữa hợp chất (ligand) với enzyme/protein của vi khuẩn từ đó đề nghị cơ chế ức vi khuẩn của hệ chất nghiên cứu. Các bước tiến hành mô hình hóa docking phân tử gồm 5 bước thông qua phần mềm MOE 2022.10 [25–28]:

Bước 1. Lựa chọn và chuẩn bị cấu trúc mục tiêu tác động

- Lựa chọn protein mục tiêu và xác định vị trí gắn kết dựa trên vùng tác động (bán kính 4,5 Å) và các amino acid quan trọng.

- Loại bỏ phân tử nước, kiểm tra và chỉnh sửa cấu dạng amino acid trước khi tái tạo vùng tác động.

Bước 2. Chuẩn bị cấu trúc phân tử hợp chất (ligand)

- Xây dựng cấu trúc hóa học 3D của các hợp chất nghiên cứu bằng phần mềm ChemBioOffice 2018. Tiến hành tối ưu hóa năng lượng bằng phần mềm SYBYL-X 1.1 để thiết lập lại cấu dạng của chất nghiên cứu.

Bước 3. Docking phân tử vào mục tiêu tác động

- Docking phân tử nghiên cứu trong cơ sở dữ liệu đã chuẩn bị. Tiến hành quy trình lắp ghép bằng phần mềm MOE 2022.10 với các tùy chọn như sau: phương pháp đặt các mảnh ligand vào túi gắn kết là phép thiết lập phù hợp với cấu trúc 3D; số kết quả tối đa cho mỗi bước lắp là 1000, số kết quả tối đa cho mỗi sự phân mảnh ligand là 200; giữ lại một số cấu dạng tốt nhất của mỗi phân tử hợp chất trong phức hợp (ligand-protein) gắn kết để tiếp tục phân tích tương tác. Cấu dạng tốt với điểm số lắp ghép thấp nhất (Score – kcal.mol⁻¹), điểm số này là tổng năng lượng tiêu thụ cho sự hình thành các tương tác gắn kết giữa phân tử nghiên cứu với mục tiêu tác động (protein).

Bước 4. Mô hình tái docking phân tử (Re-docking)

- Lắp ghép lại cấu trúc ligand đồng kết tinh trong protein, nhằm mục đích đánh giá tính phù hợp của các thông số lắp ghép.

- Kết quả mô phỏng lắp ghép được đánh giá đáng tin cậy khi giá trị sai số bình phương trung bình (root-mean-square deviation; RMSD) < 2,0 Å. Thông số này cho biết mức độ sai lệch về liên kết xương protein ban đầu (sau Bước 3) và tái lắp ghép (sau Bước 4).

Bước 5. Phân tích kết quả docking phân tử vào mục tiêu tác động

- Đánh giá khả năng ức chế protein của hợp chất nghiên cứu thông qua việc đánh giá điểm số lắp ghép và tương tác ligand-protein gồm: Năng lượng docking phân tử DS (kcal.mol⁻¹), tham số RMSD. Phân tích tương tác giữa phân tử hợp chất với mục tiêu tác động và biểu diễn tương tác trên mặt phẳng 2D, 3D thông qua các liên kết hydrogen, tương tác π - π , tương tác ion, tương tác cation- π . Các tương tác bề mặt van der Waals được phát hiện bởi sự tiếp xúc các bề mặt thân

trước, kỵ nước giữa phân tử hợp chất và điểm gắn kết (các amino acid của protein).

2.3 Mô phỏng động lực học phân tử

Các chất tiềm năng được lựa chọn để mô phỏng động lực học phân tử (molecular docking - MD) bằng GROMACS 2023. Protein được tạo cấu trúc liên kết với từ trường CHARMM-27 [29]. Cấu dạng docking tốt nhất của phối tử được lưu ở dạng *.mol2. Cấu trúc liên kết của phối tử được tạo bằng công cụ SwissParam online [30], sau đó tạo file cấu trúc liên kết phức hợp protein và phối tử. Phức được đặt vào một hộp mô phỏng 12 mặt với bán kính 10 Å so với protein. Hệ thống được lấp đầy bằng dung môi nước (TIP3P model) và sử dụng các ion Na^+ và Cl^- để trung hòa điện tích. Hệ thống được tối thiểu hóa năng lượng trong 100 ps (pico giây) với lực tối đa là 10 kJ.mol^{-1} đến nhiệt độ 300K và áp suất 1 bar. Thuật toán Verlet được sử dụng để mô phỏng MD và thuật toán LINCS dùng để hạn chế các liên kết hydro [31]. Bên cạnh đó, các tương tác không liên kết bị cắt ngắn ở 12 Å và sử dụng phương pháp Mesh Ewald để tính toán các tương tác tĩnh điện tầm xa. Các quỹ đạo MD được lưu sau mỗi 0,01 ns (nano giây).

Sau khi hoàn thành quá trình MD, dữ liệu từ các quỹ đạo được sử dụng để tính toán các giá trị RMSD (độ lệch bình phương trung bình gốc), RMSF (biến động bình phương trung bình gốc),

R_g (bán kính quay) và SASA (diện tích bề mặt có thể tiếp cận dung môi) bằng các lệnh có sẵn của GROMACS để đánh giá tính ổn định của phức chất và ảnh hưởng của phối tử lên protein khi liên kết. Ti lệ hình thành liên kết hydro cũng được phân tích bằng phần mềm VMD theo tiêu chí khoảng cách D–A < 3.5 Å và góc D–H...A > 120°. Năng lượng liên kết tự do được tính bằng công cụ gmx_MMPBSA [32], dựa trên quỹ đạo của GROMACS với trường lực CHARMM- 27 kết hợp với phương pháp MM/GBSA với thông số: hằng số điện môi 1.0, nhiệt độ 298 K và nồng độ muối 0,15 M [33].

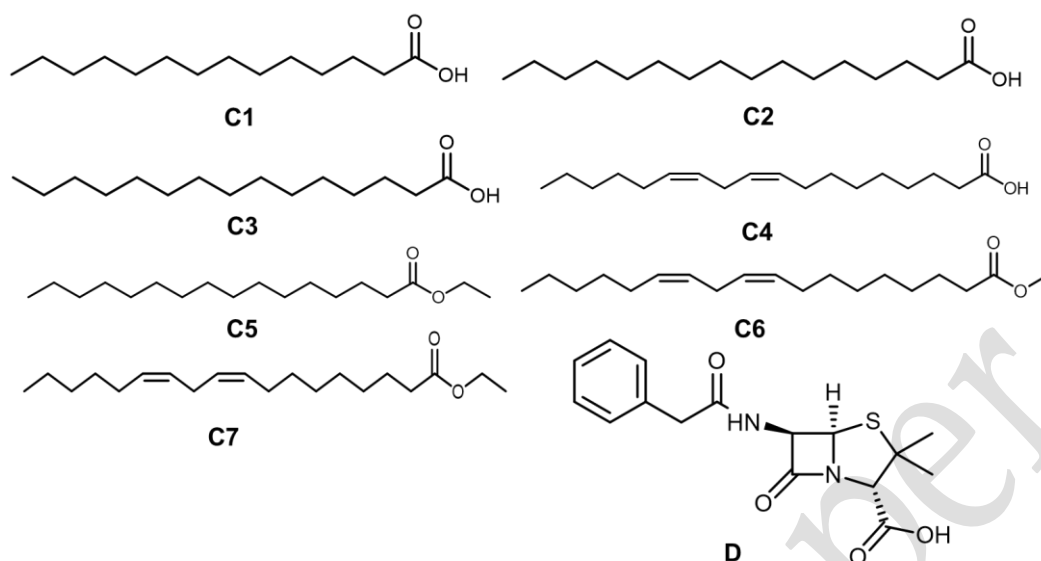
3 Kết quả và thảo luận

3.1 Dữ liệu các hợp chất nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, tiến hành nghiên cứu khả năng kháng vi khuẩn hô hấp (*S. pneumoniae*) của 7 hợp chất: Myristic acid, Palmitic acid, Pentadecanoic acid, Linoleic acid, Ethyl palmitate, Methyl linoleate và Ethyl linoleate. Để đánh giá khả năng ức chế protein Q8DQF8 của vi khuẩn hô hấp (*S. pneumoniae*), nhóm nghiên cứu đã sử dụng thuốc kháng sinh được dùng trong phát đồ điều trị bệnh nhiễm khuẩn gây ra bởi vi khuẩn *S. pneumoniae*. Dữ liệu về cấu tạo hóa học, công thức phân tử và ký hiệu của các hợp chất nghiên cứu được trình bày trong Bảng 1 và Hình 2.

Bảng 1. Thông tin các hợp chất nghiên cứu

STT	Tên hợp chất	Công thức phân tử	Ký hiệu
1	Myristic acid	$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$	C1
2	Palmitic acid	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	C2
3	Pentadecanoic acid	$\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_2$	C3
4	Linoleic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	C4
5	Ethyl palmitate	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	C5
6	Methyl linoleate	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$	C6
7	Ethyl linoleate	$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$	C7
8	Penicillin G	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	D



Hình 2. Công thức cấu tạo các hợp chất C1-C7 và thuốc Penicillin G (D)

3.2 Thông số lượng tử các hợp chất nghiên cứu

Cấu trúc các hợp chất C1 - C7 đã được tối ưu tại mức lý thuyết M05-2X/6-311++G(d,p), sau đó được tiến hành xác định thông số lượng tử bằng phương pháp orbital tự nhiên tại mức lý thuyết M05-2X/def2-TZVPP và kết quả được trình bày trong Hình 3.

Những vị trí có cấu trúc HOMO lớn hơn sẽ có khả năng cho electron mạnh hơn, trong khi các vị trí với cấu trúc HOMO nhỏ hơn lại khó cho electron. Điều này có ý nghĩa lớn trong việc giải thích tính chất hóa học và hoạt tính sinh học của các phân tử. Đối với các hợp chất tự nhiên, khi chúng tương tác với các amino acid trong protein, các phân tử này có khả năng cung cấp electron từ

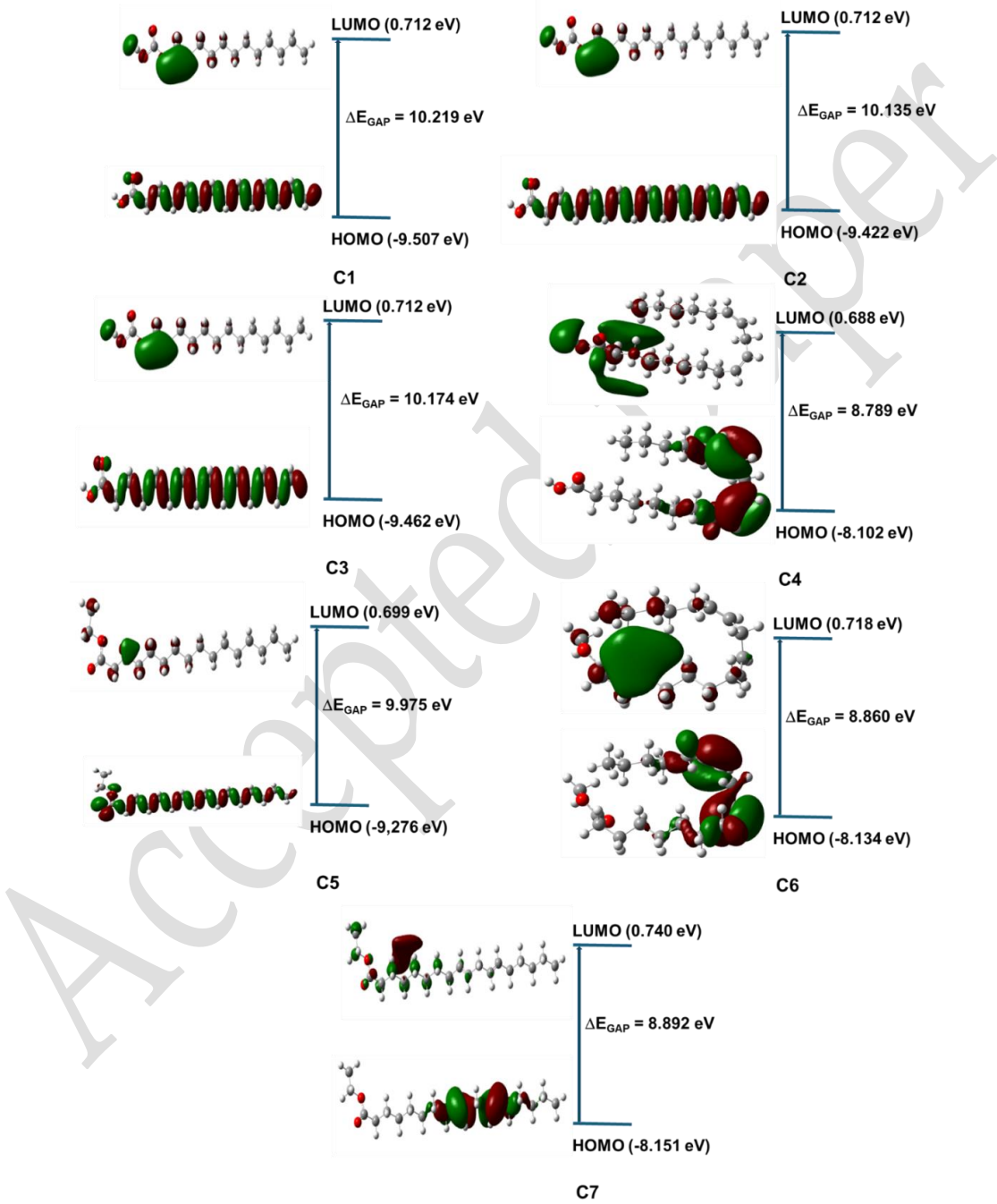
orbital HOMO của chúng vào các orbital s hoặc p trống của amino acid. Dựa vào cấu trúc HOMO của C1-C7 có thể nhận thấy cấu trúc orbital HOMO của hợp chất này phân bố đều ở các liên kết mạch thẳng C-C, đây là các vị trí có khả năng cho điện tử linh hoạt.

Cấu trúc orbital LUMO cho biết các vị trí dễ nhận điện tử của phân tử. Các vị trí có kích thước orbital LUMO càng lớn, càng dễ nhận điện tử. Các vị trí có kích thước LUMO càng bé càng khó nhận điện tử. Cấu trúc LUMO của các hợp chất đại diện được xác định cụ thể tập trung nhiều tại vị trí dị tố O, đây là các vị trí dễ nhận điện tử của các hợp chất nghiên cứu khi tương tác với các nhóm chức của amino axit của protein.

Bảng 2. Thông số hóa lượng tử của C1-C7 từ tính toán orbital liên kết tự nhiên mức lý thuyết M05-2X/def2-TZVPP

Hợp chất	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE_{GAP}	$I = -E_{HOMO}$	$A = -E_{LUMO}$	χ	μ	η	$S = 1/\eta$
C1	-9,507	0,712	10,219	9,507	-0,712	4,398	-4,398	5,110	0,196
C2	-9,422	0,712	10,135	9,422	-0,712	4,355	-4,355	5,067	0,197
C3	-9,462	0,712	10,174	9,462	-0,712	4,375	-4,375	5,087	0,197
C4	-8,102	0,688	8,789	8,102	-0,688	3,707	-3,707	4,395	0,228
C5	-9,276	0,699	9,975	9,276	-0,699	4,288	-4,288	4,987	0,201

Hợp chất	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE_{GAP}	$I = -E_{HOMO}$	$A = -E_{LUMO}$	χ	μ	η	$S = 1/\eta$
C6	-8,143	0,718	8,860	8,143	-0,718	3,713	-3,713	4,430	0,226
C7	-8,151	0,740	8,892	8,151	-0,740	3,705	-3,705	4,446	0,225



Hình 3. HOMO và LUMO của các hợp chất C1-C7 theo phương pháp orbital liên kết tự nhiên tại mức lý thuyết M05-2X/def2-TZVPP

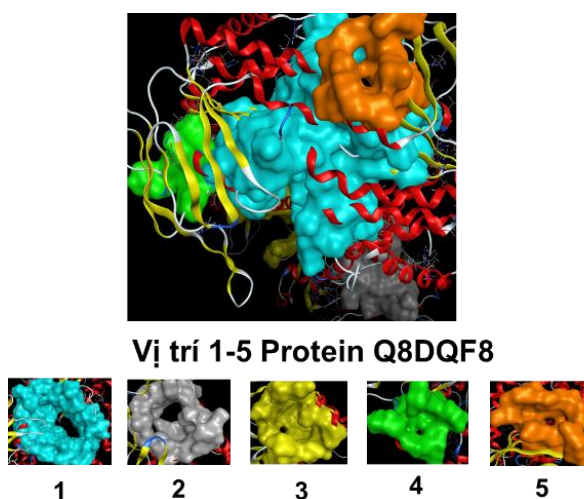
Từ Hình 3 có thể nhận thấy mật độ điện tử trong các orbital HOMO và LUMO của các hợp chất đại diện đều phân bố trên tương đối đồng đều trên diện tích của mỗi phân tử. Dựa vào cấu trúc HOMO và cấu trúc LUMO của các chất **C1-C7**, để xác định vị trí thuận lợi cho quá trình cho và nhận điện tử. Từ đó định hướng cho quá trình nghiên cứu sự hình thành tương tác giữa các hợp chất **C1-C7** với các amino acid của các protein. Từ Bảng 2 có thể xác định được chiều giảm dần của giá trị E_{HOMO} : **C4 > C6 > C7 > C5 > C2 > C3 > C1** và đây cũng là chiều giảm khả năng cho điện tử. Mỗi chất có giá trị E_{LUMO} càng bé, thì phân tử đó càng dễ nhận điện tử. Nên chiều giảm dần khả năng nhận điện tử là **C4 > C5 > C1 $\approx$ C2 $\approx$ C3 > C6 > C7** và khả năng nhận điện tử của các hợp chất **C1, C2, C3** tương đương với nhau.

Độ chênh lệch năng lượng LUMO-HOMO hay còn gọi biến thiên vùng cấm $\Delta E_{GAP} = E_{LUMO} - E_{HOMO}$ có thể được xem như là một thông số cho khả năng tương tác liên phân tử, làm ligand phản ứng đến bề mặt của một tác nhân (protein, enzyme, bề mặt) với hiệu quả ức đáng kể thông qua các giá trị biến thiên năng lượng của ligand (hợp chất nghiên cứu) lên protein thay đổi, dẫn đến thể ion hóa (I) và ái lực electron (A) của phân tử chất nghiên cứu cũng cần được khảo sát bằng cách áp dụng định lý Koopmans' [23,24] biểu thức liên hệ với HOMO và LUMO là: $I = -E_{HOMO}$ và $A = -E_{LUMO}$ và độ âm điện (χ), hóa thế (μ) nhằm mục đích khẳng định tính chất hóa lý của hợp chất nghiên cứu và khẳng định tiềm năng ức chế protein. Từ kết quả ΔE_{GAP} có thể dự đoán được xu hướng phản ứng của các hợp chất hữu cơ **C1-C7** với bề mặt của các protein và hiệu quả ức chế của các hợp chất này. Giá trị ΔE_{GAP} của **C1-C7** nằm trong khoảng 8,789 eV đến 10,174 eV. Trong dãy có chất nghiên cứu, giá trị thể ion hóa thay đổi từ 8,102 eV đến 9,507 eV, giá trị ái lực electron thay đổi từ -0,740 eV đến -0,688 eV.

3.3 Khảo sát khả năng ức chế protein Q8DQF8 bằng mô phỏng docking phân tử

Phương pháp docking phân tử được sử dụng để mô phỏng và dự đoán năng lượng tương tác giữa các hợp **C1-C7** và thuốc đối chứng Penicillin G với protein Q8DQF8 của vi khuẩn hô hấp (*S. pneumoniae*). Quá trình nghiên cứu được thực hiện bằng phần mềm MOE 2022.10, tập trung vào khảo sát và sàng lọc các vị trí tiếp cận của hợp chất với hai protein để xác định vị trí tối ưu cho khả năng ức chế.

Tiến hành xác định cấu trúc bậc hai protein Q8DQF8 của vi khuẩn hô hấp (*S. pneumoniae*) với các vị trí tiếp cận khác nhau và được minh họa bằng năm màu sắc khác nhau: vị trí 1 (màu xanh dương), vị trí 2 (màu xám), vị trí 3 (màu vàng), vị trí 4 (màu xanh lá cây) và vị trí 5 (màu cam) (Hình 4). Sau đó tiến hành sàng lọc vị trí tiếp cận protein Q8DQF8 với mỗi hợp chất nghiên cứu (**C1-C7**) và thuốc đối chứng (**D**). Vị trí nào có năng lượng docking thấp và số lượng tương tác lớn sẽ thích hợp cho quá trình ức chế protein Q8DQF8.



Hình 4. Cấu trúc bậc hai của protein Q8DQF8 với các vị trí tiếp cận 1 – 5

Kết quả sàng lọc vị trí tối ưu được trình bày trong Bảng 3. Vị trí 1 và 2 là hai vị trí chiếm tỉ lệ cao trong phù hợp cho quá trình docking lên protein Q8DQF8. Cụ thể: Hợp chất **C2**, **C3**, **C5**, **C7** thích hợp vào vị trí số 2 (màu xám) với năng lượng docking từ $-10,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$ đến $-8,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Vị trí 1 (màu xanh dương) phù hợp cho hợp chất **C4**, **C6** và thuốc đối chứng **D** (DS: $-13,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$ đến $-9,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Riêng hợp chất **C1** thích hợp docking vào vị trí 3 (màu vàng). Sau khi đã xác định được vị trí tối ưu để tiếp cận protein Q8DQF8 sẽ tiến hành mô phỏng docking phân tử để xác định chi tiết năng lượng docking và các dạng liên kết, tương tác hình thành giữa hợp chất nghiên cứu với protein ức chế.

Sử dụng phương pháp docking để nghiên cứu khả năng ức chế protein Q8DQF8 của các hợp chất **C1-C7** và thuốc đối chứng (**D**). Kết quả về thông số quá trình docking như năng lượng docking (DS), chỉ số RMSD, các tương tác van der Waals, liên kết hydro được trình bày trong Bảng 4 và hình ảnh mô phỏng 2D-3D quá trình ức chế được chỉ ra trong Hình 5. Các kết quả mô phỏng đều có giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) đều nhỏ hơn 2Å trong tất cả kết quả nên kết quả docking là đáng tin cậy [34].

Dựa vào kết quả docking có thể nhận thấy rằng các hợp chất nghiên cứu **C1-C7** tương tác với

protein Q8DQF8 thông qua các tương tác như H-acceptor, H-donor, H- π với các amino acid có trong protein Q8DQF8. Khả năng ức chế mạnh hay yếu phụ thuộc vào các yếu tố như năng lượng docking, số lượng tương tác giữa hợp chất nghiên cứu với protein. Trong 7 hợp chất acid béo và dẫn xuất ester của acid béo, hợp chất **C6** (Methyl linoleate) có khả năng ức chế protein Q8DQF8 mạnh nhất với năng lượng $-11,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ với 2 tương tác H-acceptor giữa các nguyên tử -O- và -N- của hợp chất **C6** với hai amino acid Lys 100 và Met 16. Ngoài ra có 13 amino acid tham gia vào tương tác van der Waals giữa **C6** với protein Q8DQF8. Bằng cách so sánh năng lượng docking, số liên kết hydro và số lượng tương tác van der Waals có thể xác định được dãy sắp xếp theo chiều giảm dần khả năng ức chế protein Q8DQF8: **C6** > **C3** > **C5** > **C4** > **C2** > **C1** > **C7**. So sánh với khả năng ức chế của thuốc đối chứng (**D**) nhận thấy rằng hợp chất Methyl linoleate (**C6**) có khả năng ức chế tương đương. Thông qua việc nghiên cứu khả năng ức chế protein Q8DQF8, các hợp chất của acid béo và dẫn xuất ester của acid béo có khả năng ức chế protein của vi khuẩn hô hấp (*S. pneumoniae*). Từ kết quả mô phỏng có thể kết luận các hợp chất **C1-C7** tiềm năng trong việc ức chế protein Q8DQF8 trong việc điều trị bệnh hô hấp (*S. pneumoniae*) và định hướng cho các nghiên cứu thực nghiệm sau này.

Bảng 3. Kết quả sàng lọc về khả năng ức chế của các hợp chất **C1-C7** và thuốc đối chứng (**D**) đối với các vị trí tiềm năng trên protein Q8DQF8

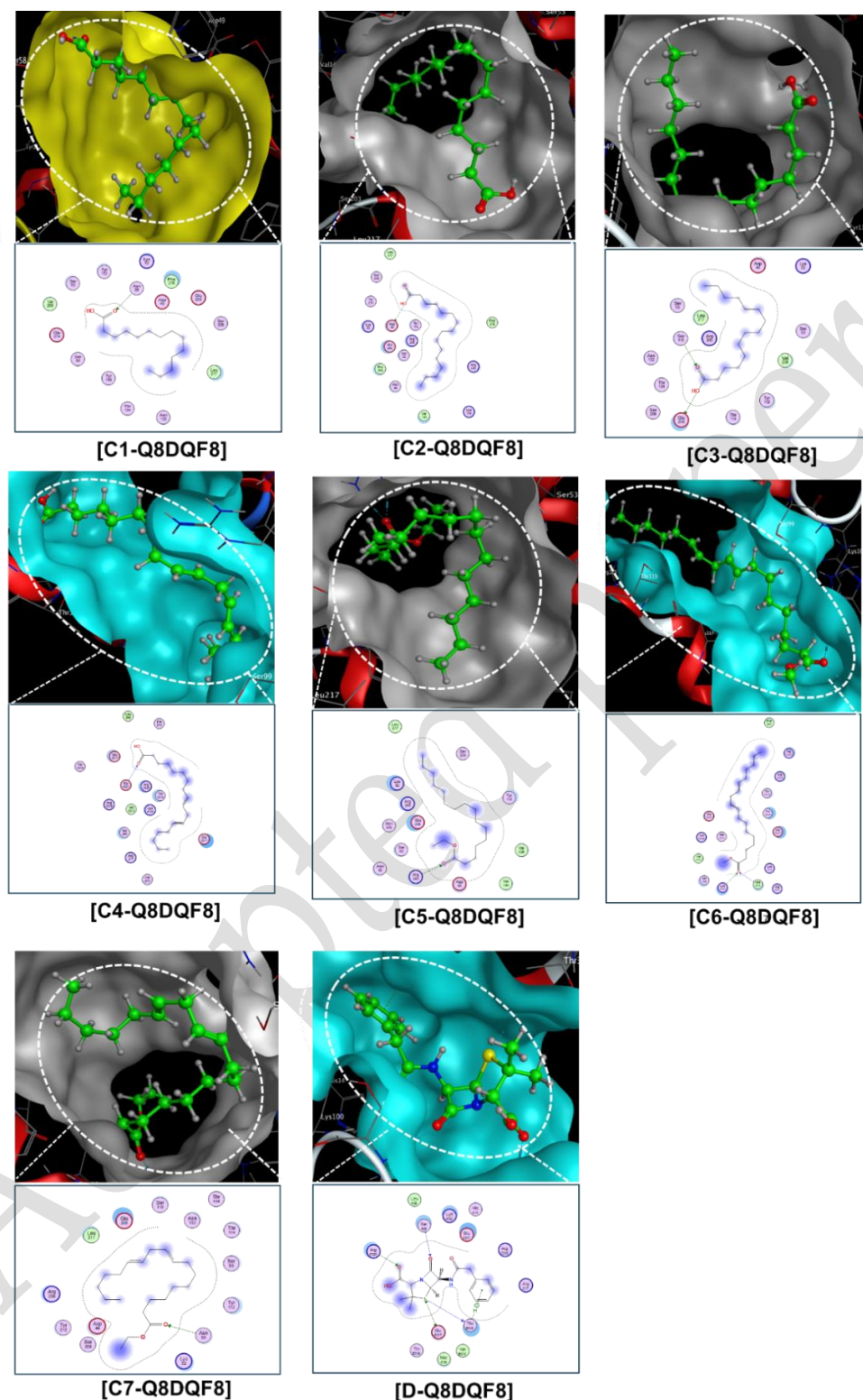
Hợp chất	Protein Q8DQF8									
	Vị trí 1		Vị trí 2		Vị trí 3		Vị trí 4		Vị trí 5	
	E	N	E	N	E	N	E	N	E	N
C1	-8,0	0	-7,6	0	-8,7	1	-7,2	0	-7,0	0
C2	-8,3	0	-9,0	1	-7,0	0	-6,4	0	-6,6	0
C3	-9,0	1	-10,9	2	-7,4	0	-8,1	1	-6,7	0
C4	-9,4	1	-8,7	1	-7,4	0	-7,0	0	-6,8	0
C5	-9,0	1	-10,7	2	-8,7	1	-8,0	0	-7,5	0
C6	-11,3	2	-10,0	1	-9,4	1	-9,2	1	-8,1	0
C7	-7,7	0	-8,6	1	-7,1	0	-6,9	0	-6,7	0
D	-13,4	6	-11,0	2	-9,7	1	-10,3	2	-11,8	2

E: năng lượng docking DS (kcal.mol^{-1}); N: số tương tác

Bảng 4. Các thông số trong tương tác thông qua mô phỏng docking phân tử giữa các thuốc nghiên cứu **C1-C7** và thuốc đối chứng (**D**) lên protein Q8DQF8

Phức Ligand-protein			Liên kết hydro						Tương tác van der Waals
Phức	DS	RMSD	L	P	T	D	E		
C1- Q8DQF8	-8,7	1,54	O	N	Asn 56	H- acceptor	2,87	-2,3	Tyr 112, Ser 53, Val 238, Glu 274, Ser 58, Tyr 140, Thr 134, Asn 132, Leu 217, Ser 209, Glu 205, Asp 49, Phe 278, Lys 52
C2- Q8DQF8	-9,0	1,83	O	O	Asp 49	H-donor	2,85	-5,8	Leu 217, Ser 209, Tyr 212, Lys 52, Tyr 112, Arg 208, Glu 205, Ser 53, Pro 204, Asn 56, Val 144, Lys 145, Arg 240, Phe 278
C3- Q8DQF8	-10,9	1,71	O	O	Glu 205	H-donor	2,96	-5,5	Asp 49, Lys 52, Ser 53, Val 238, Tyr 112, Thr 114, Ser 209, Thr 134, Asn 132, Ser 58, Leu 217, Arg 208
			O	O	Ser 116	H-acceptor	3,10	-0,8	
C4- Q8DQF8	-9,4	1,65	O	N	Glu 321	H-acceptor	3,11	-3,1	Leu 98, His 14, Glu 317, Thr 319, Arg 318, Val 313, Arg 320, Thr 316, Lys 100, Ser 99, Arg 17, His 14, Glu 317
C5- Q8DQF8	-10,7	1,22	O	N	Arg 240	H-acceptor	3,18	-1,6	Leu 217, Ser 209, Tyr 112, Val 238, Val 144, Asp 49, Asn 56, Ser 53, Glu 205, Asn 242, Arg 208, Lys 52
			O	N	Arg 240	H-acceptor	3,03	-3,4	
C6- Q8DQF8	-11,3	1,56	O	N	Lys 100	H-acceptor	2,93	-2,4	Phe 96, Arg 320, Arg 320, Thr 319, Thr 316, Glu 317, Lys 15, Arg 17, Ser A99, Val 313, Glu 317, Lys 406, His 14
			O	N	Met 16	H-acceptor	3,22	-1,2	
C7- Q8DQF8	-8,6	1,87	O	N	Asn 56	H-acceptor	3,32	-1,1	Asp 49, Ser 209, Tyr 212, Arg 208, Leu 217, Glu 205, Ser 116, Asn 132, Thr 134, Thr 114, Ser 53, Tyr 112, Lys 52
D-Q8DQF8	-13,4	1,97	S	O	Thr 316	H-donor	3,24	-0,2	Thr 319, Met 16, Val 313, Arg 17, Arg 318, Glu 317, Lys 100, His 14, Leu 98
			S	O	Glu 317	H-donor	4,17	-0,6	
			S	C	Glu 317	H-acceptor	3,87	-0,9	
			O	N	Ser 99	H-acceptor	3,44	-1,5	
			O	N	Arg 320	H-acceptor	2,92	-3,1	
			6-ring	C	Thr 316	H- π	4,11	-0,7	

DS: năng lượng docking (kcal.mol⁻¹); RMSD: Độ lệch bình phương trung bình gốc (Root-mean-square deviation) (Å); L: Ligand; P: Protein; T: loại tương tác; D: khoảng cách tương tác (Å); E: năng lượng (kcal.mol⁻¹)



Hình 5. Mô phỏng trực quan 2D-3D ức chế protein Q8DQF8 thông qua tương tác của các nhóm chức trong hợp chất nghiên cứu C1-C7 và thuốc đối chứng (D)

3.4 Mô phỏng động lực học phân tử

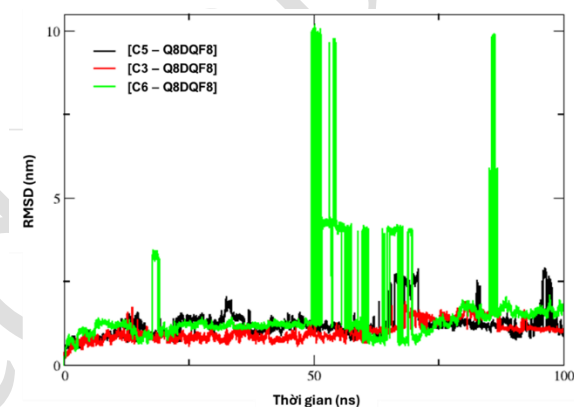
Sau khi tiến hành nghiên cứu mô phỏng docking phân tử giữa các hợp chất nghiên cứu C1-C7 lên protein Q8DQF8, chúng tôi tiến hành chọn 3 chất có khả năng ức chế protein Q8DQF8 gồm: C5, C3 và C6 để tiến hành nghiên cứu chi tiết hơn về khả năng gắn kết protein Q8DQF8 bằng mô phỏng động lực học phân tử trong 100 ns. Các phức hợp phối tử-protein được kí hiệu như sau: [C5-Q8DQF8] – màu đen; [C3-Q8DQF8] – màu đỏ và [C6-Q8DQF8] – màu xanh.

Kết quả quá trình mô phỏng động lực học phân tử được đánh giá dựa trên các yếu tố như độ ổn định của phối tử ($RMSD_{\text{phối tử}}$), độ ổn định của protein ($RMSD$), độ linh động của các amino acid ($RMSF$), bán kính chuyển động xoay của các amino acid (R_g), diện tích bề mặt có thể tiếp cận dung môi ($SASA$) và số lượng liên kết hydrogen.

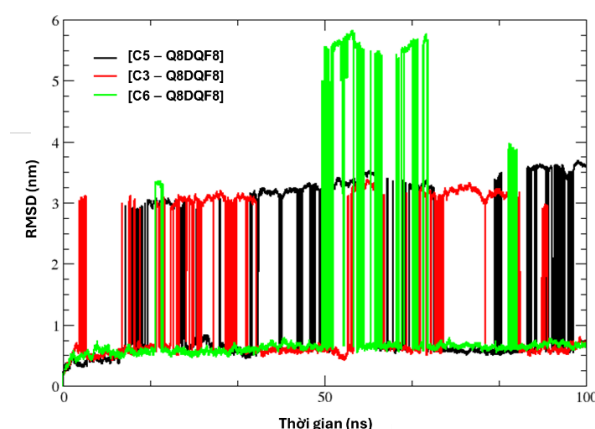
Hình 6 và hình 7 thể hiện sự thay đổi giá trị $RMSD$ của phối tử và phức hợp phối tử - protein trong khoảng thời gian 100 ns. Nhìn chung các phức của C3, C5 và C6 với protein Q8DQF8 có xu hướng đạt trạng thái ổn định sau khoảng 20-30 ns với mức dao động nhỏ quanh giá trị trung bình nên các phối tử có khả năng gắn kết bền vững trong vị trí gắn của protein. Hình 8 biểu diễn giá trị $RMSF$ của các phân tử amino trong protein sau 50 ns mô phỏng động học. Nhìn chung, các giá trị này chồng lấp và khá tương đồng nhau. Điều này chứng tỏ các amino acid không di chuyển nhiều và khá ổn định trong quá trình mô phỏng.

Đồ thị $SASA$ (Hình 9) cho thấy các phức không có sự thay đổi lớn trong quá trình mô phỏng và thể hiện tính ổn định về mặt cấu trúc của protein khi tương tác với ligand. Kết hợp với dữ liệu R_g của các amino acid (Hình 10) với sự dao động nhẹ trong 50 ns mô phỏng cho thấy cấu trúc protein không bị biến dạng hay co rút đáng

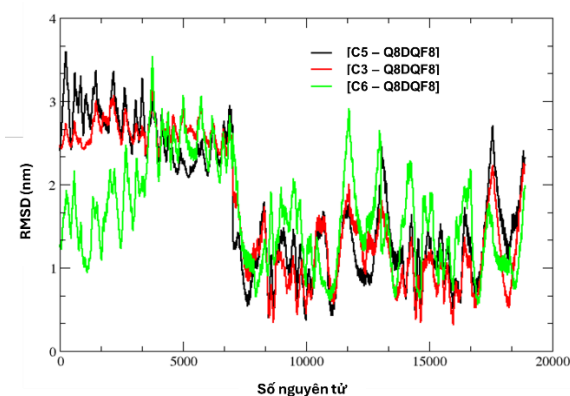
kể khi tương tác với các phối tử (C3, C5 và C6). Hình 10 biểu diễn sự thay đổi số lượng liên kết hydro giữa các ligand (C3, C5, C6) và protein Q8DQF8 theo thời gian trong suốt 100 ns mô phỏng MD. Trong đó, phức [C3-Q8DQF8] thường xuyên duy trì được ít nhất một liên kết hydro, với một số thời điểm đạt đến 2 liên kết, cho thấy tương tác bền vững và lặp lại trong vùng hoạt động. Ngược lại, hợp chất C6 có số lượng liên kết hydro thấp nhất cho thấy tương tác yếu hơn so với protein đích. Mặt khác, khi tính số liên kết hydrogen trung bình trong 50 ns (Bảng 5) thì kết quả cũng phù hợp với Hình 11.



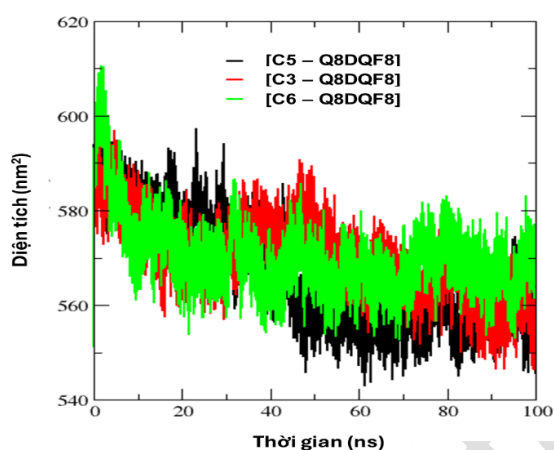
Hình 6. Đồ thị biểu diễn giá trị $RMSD_{\text{phối tử}}$ được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 100 ns



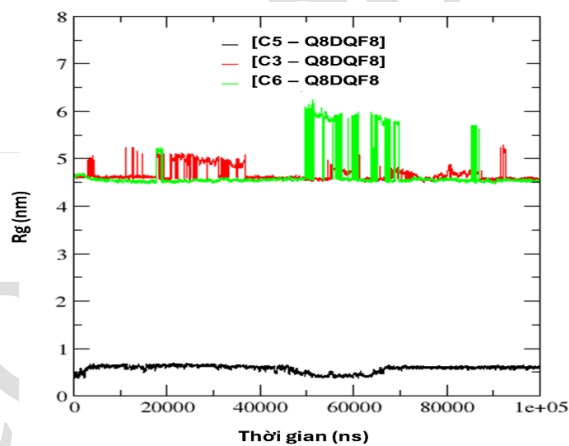
Hình 7. Đồ thị biểu diễn giá trị $RMSD$ được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 100 ns



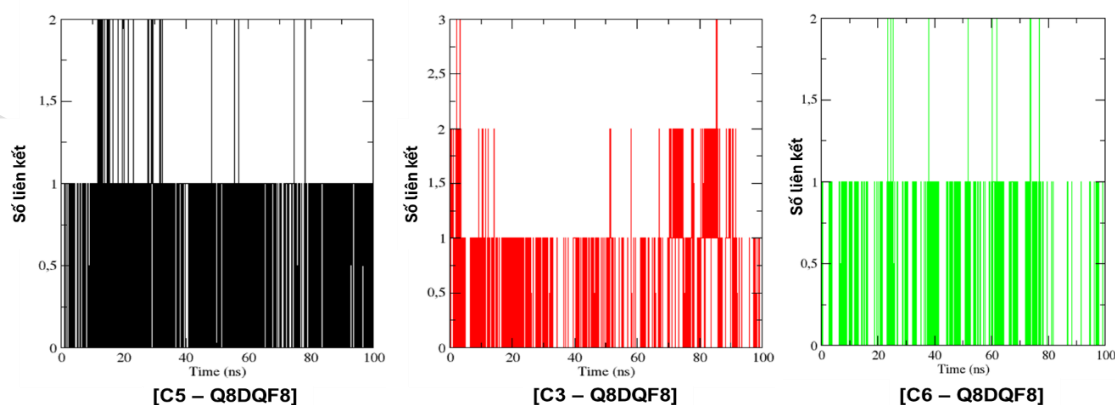
Hình 8. Đồ thị biểu diễn giá trị RMSF được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 100 ns



Hình 9. Đồ thị biểu diễn giá trị SASA được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 100 ns



Hình 10. Đồ thị biểu diễn giá trị R_g được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 100 ns



Hình 11. Đồ thị biểu diễn giá trị Số lượng liên kết hydro được tính toán dựa vào quỹ đạo của quá trình mô phỏng MD 100 ns

4 Kết luận

Trong nghiên cứu này, thông số lượng tử của các hợp chất **C1-C7** đã được xác định bằng phương pháp orbital tự nhiên tại mức lý thuyết M05-2X/def2-TZVPP. Nghiên cứu đã đánh giá khả năng ức chế protein Q8DQF8 của vi khuẩn (*S. pneumoniae*) của các hợp chất **C1-C7** và thuốc đối chứng **D** bằng phương pháp mô phỏng docking phân tử. Các vị trí tiếp cận protein Q8DQF8 đã được sàng lọc và xác định được vị trí tối ưu. Kết quả mô phỏng docking phân tử chỉ ra các hợp chất nghiên cứu đều có giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) của phối tử với protein trong các phức hợp nghiên cứu nhỏ hơn 2Å cho kết quả docking đáng tin cậy. Dãy sắp xếp theo chiều giảm dần của khả năng ức chế: **C6** (-11,3 kcal.mol⁻¹) > **C3** (-10,9 kcal.mol⁻¹) > **C5** (-10,7 kcal.mol⁻¹) > **C4** (-9,4 kcal.mol⁻¹) > **C2** (-9,0 kcal.mol⁻¹) > **C1** (-8,7 kcal.mol⁻¹) > **C7** (-8,6 kcal.mol⁻¹). Kết quả mô phỏng động lực học phân tử của các chất có năng lượng ức chế tốt **C3**, **C5** và **C6** với protein Q8DQF8 cho thấy các phức hợp đều khá ổn định và tương tác tốt với protein Q8DQF8 về cấu trúc. Trong đó, hợp chất **C3** có khả năng tương tác tốt nhất với protein Q8DQF8, thể hiện qua số lượng liên kết hydro cao và các chỉ số RMSD và giá trị R_g ổn định.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ một phần của nhóm nghiên cứu tiêu biểu Đại học Huế số NCTB.DHH.2024.04 và được tài trợ bởi giải thưởng L’Oreal-UNESCO for Women in Science năm 2023.

Tài liệu tham khảo

- Budgin JB, Flaherty MJ. Alternative therapies in veterinary dermatology. Vet Clin Small Anim Pract. 2013;43(1):189-204.
- Tresch M, Mevissen M, Ayrle H, Melzig M, Roosje P, Walkenhorst M. Medicinal plants as therapeutic options for topical treatment in canine dermatology? A systematic review. BMC Vet Res. 2019;15(1):1-19.
- Glick NR, Fischer MH. The role of essential fatty acids in human health. J Evid Based Complementary Altern Med. 2013;18(4):268-89.
- Ahmad MU. Fatty acids: Chemistry, synthesis, and applications. Elsevier; 2017.
- Desbois AP, Smith VJ. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. Appl Microbiol Biotechnol. 2010;85(6):1629-42.
- Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. Exp Biol Med. 2008;233(6):674-88.
- Marangoni F, Agostoni C, Borghi C, Catapano AL, Cena H, Ghiselli A, et al. Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects. Atherosclerosis. 2020;292:90-8.
- Laposata M. Fatty acid ethyl esters: ethanol metabolites which mediate ethanol-induced organ damage and serve as markers of ethanol intake. Prog Lipid Res. 1998;37(5):307-16.
- Viện Dược liệu. Nghiên cứu thuốc từ thảo dược. Hà Nội: NXB Khoa học và kỹ thuật; 2006.
- Brooks LRK, Mias GI. Streptococcus pneumoniae's virulence and host immunity: aging, diagnostics, and prevention. Front Immunol. 2018;9:1366.
- Bridy-Pappas AE, Margolis MB, Center KJ, Isaacman DJ. Streptococcus pneumoniae: description of the pathogen, disease epidemiology, treatment, and prevention. Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther. 2005;25(9):1193-212.
- Phước ĐV. Bệnh học nội khoa. Hà Nội: Nhà xuất bản Y Học; 2009.
- Wenzel RP, Fowler 3rd AA. Clinical practice. Acute bronchitis. N Engl J Med. 2006;355(2125):e30.
- Eun-Hyung Lee F TJ. Textbook of Respiratory Medicine 2010. Saunders. 2010;5:661-98.
- Petersen I, Johnson AM, Islam A, Duckworth G, Livermore DM, Hayward AC. Protective effect of antibiotics against serious complications of common respiratory tract infections: retrospective

- cohort study with the UK General Practice Research Database. *Bmj*. 2007;335(7627):982.
16. Thai NM, Bui TQ, Quy PT, Thanh Hai NT, To DC, Quang DT, et al. Potentiality of Organosulfur Compounds Against SARS-CoV-2-Coinfected Bacteria *Streptococcus pyogenes* and *S pneumoniae*: A Cross-Platform Analysis from Computational Chemistry. *Nat Prod Commun*. 2023;18(8):1934578X231194440.
 17. Becke AD. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys Rev A*. 1988;38(6):3098-109.
 18. Schäfer A, Horn H, Ahlrichs R. Fully optimized contracted Gaussian basis sets for atoms Li to Kr. *J Chem Phys*. 1992;97(4):2571-7.
 19. Weigend F, Ahlrichs R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy. *Phys Chem Chem Phys*. 2005;7(18):3297-305.
 20. Reed AE, Weinstock RB, Weinhold F. Natural population analysis. *J Chem Phys*. 1985;83(2):735-46.
 21. Koopmans T. The classification of wave functions and eigen-values to the single electrons of an atom. *Physica*. 1934;1:104-13.
 22. Lukovits I, Kalman E, Zucchi F. Corrosion inhibitors—correlation between electronic structure and efficiency. *Corrosion*. 2001;57(1):3–8.
 23. Sadlej AJ, Urban M. Medium-size polarized basis sets for high-level-correlated calculations of molecular electric properties: III. Alkali (Li, Na, K, Rb) and alkaline-earth (Be, Mg, Ca, Sr) atoms. *J Mol Struct THEOCHEM*. 1991;234:147-71.
 24. Kohn W, Sham LJ. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys Rev*. 1965;140(4A):1133-8.
 25. Tarasova O, Poroikov V, Veselovsky A. Molecular docking studies of HIV-1 resistance to reverse transcriptase inhibitors: Mini-review. *Molecules*. 2018;23(5):1233.
 26. Thai KM, Le DP, Tran TD, Le MT. Computational assay of Zanamivir binding affinity with original and mutant influenza neuraminidase 9 using molecular docking. *J Theor Biol*. 2015;385:31-9.
 27. Ngo TD Du, Tran TDD, Le MTT, Thai KMM. Computational predictive models for P-glycoprotein inhibition of in-house chalcone derivatives and drug-bank compounds. *Mol Divers*. 2016;20(4):945-61.
 28. Babu TMC, Rajesh SS, Bhaskar BV, Devi S, Rammohan A, Sivaraman T, et al. Molecular docking, molecular dynamics simulation, biological evaluation and 2D QSAR analysis of flavonoids from *Syzygium alternifolium* as potent anti-*Helicobacter pylori* agents. *RSC Adv*. 2017;7(30):18277-92.
 29. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Páll S, Smith JC, Hess B, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*. 2015;1:19-25.
 30. Zoete V, Cuendet MA, Grosdidier A, Michielin O. SwissParam: a fast force field generation tool for small organic molecules. *J Comput Chem*. 2011;32(11):2359-68.
 31. Hess B, Bekker H, Berendsen HJC, Fraaije JGEM. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *J Comput Chem*. 1997;18(12):1463-72.
 32. Valdés-Tresanco MS, Valdés-Tresanco ME, Valiente PA, Moreno E. gmx_MMPBSA: a new tool to perform end-state free energy calculations with GROMACS. *J Chem Theory Comput*. 2021;17(10):6281-91.
 33. Phan TV, Nguyen VTV, Nguyen CHH, Vu TT, Tran TD, Le MT, et al. Discovery of AcrAB-TolC pump inhibitors: Virtual screening and molecular dynamics simulation approach. *J Biomol Struct Dyn*. 2023;41(22):12503-20.
 34. Ding Y, Fang Y, Moreno J, Ramanujam J, Jarrell M, Brylinski M. Assessing the similarity of ligand binding conformations with the Contact Mode Score. *Comput Biol Chem*. 2016;64(1):403-13.