



Review Article

# Potentialities of Antimicrobial Peptide Mastoparan C Isolated the European Hornet *Vespa Crabro* in Drug Discovery

Bui Thi Phuong Hai<sup>1</sup>, Trinh Thi Kim Anh<sup>1</sup>, Tran Thi Khanh Huyen<sup>2</sup>,  
Luong Xuan Huy<sup>1</sup>, Dang Thi Ngan<sup>2</sup>, Bui Thi Thuong<sup>2</sup>,  
Nguyen Van Khanh<sup>2</sup>, Nguyen Thanh Hai<sup>2</sup>, Nguyen Thi Thanh Binh<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Phenikaa University, Yen Nghia, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 15 February 2023

Revised 02 March 2023; Accepted 10 March 2023

**Abstract:** Exploring the potential of natural bioactive peptides is becoming more and more important for new drug discovery. First isolated from the European wasp *Vespa crabro*, the antimicrobial peptide Mastoparan C was found in higher content than many other molecules in the Mastoparan family. In addition to the mast cell degranulation that is similar to some components in insect venom, this compound possesses remarkable biological activities such as broad-spectrum antibacterial and antifungal, inhibiting the proliferation of many human cancer cell lines. However, unfortunately, Mastoparan C has the notable side effect of causing mammalian hemolysis. By investigating its structure-activity relationships, this review pointed out some suggestions to overcome the disadvantages of this potential peptide and thereby support further in-depth study in the drug discovery field.

**Keywords:** Mastoparan C, antimicrobial peptide, biological activity, structure-activity relationships.

\* Corresponding author.

E-mail address: binhnguyen.smp@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4489>

# Tiềm năng của peptid kháng khuẩn Mastoparan C phân lập từ ong bắp cày châu Âu *Vespa crabro* trong lĩnh vực khám phá thuốc

Bùi Thị Phương Hải<sup>1</sup>, Trịnh Thị Kim Anh<sup>1</sup>, Trần Thị Khánh Huyền<sup>2</sup>,  
Lương Xuân Huy<sup>1</sup>, Đặng Thị Ngân<sup>2</sup>, Bùi Thị Thương<sup>2</sup>,  
Nguyễn Văn Khanh<sup>2</sup>, Nguyễn Thanh Hải<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thanh Bình<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Phenikaa, Yên Nghĩa, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 15 tháng 02 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 02 tháng 3 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 3 năm 2023

**Tóm tắt:** Khai thác tiềm năng của các peptid tự nhiên mang hoạt tính sinh học ngày càng trở nên quan trọng đối với quá trình khám phá thuốc mới. Mastoparan C là một peptid kháng khuẩn được phân lập đầu tiên từ ong bắp cày châu Âu *Vespa crabro* với hàm lượng cao hơn so với nhiều phân tử cùng họ khác. Bên cạnh tác dụng gây thoái hóa tế bào mast tương tự như một số thành phần trong nọc côn trùng, hợp chất này sở hữu những hoạt tính sinh học đáng chú ý như kháng khuẩn, kháng nấm phổ rộng, ức chế sự tăng sinh của nhiều dòng tế bào ung thư người. Tuy nhiên, Mastoparan C lại có tác dụng phụ đáng lưu ý là khả năng gây tán huyết động vật có vú. Qua phân tích mối liên quan cấu trúc - tác dụng, đã chỉ ra được phương hướng nhằm khắc phục những nhược điểm của peptid nhiều tiềm năng này, từ đó tạo tiền đề cho những nghiên cứu chuyên sâu trong lĩnh vực phát minh thuốc.

*Từ khóa:* Mastoparan C, peptid kháng khuẩn, tác dụng sinh học, liên quan cấu trúc - tác dụng

## 1. Giới thiệu

Trong quá trình khám phá thuốc mới, khai thác tiềm năng của các peptid tự nhiên có hoạt tính sinh học là hướng nghiên cứu đang ngày càng thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học. Sự sản sinh ra các peptid này từ tế bào biểu mô và thực bào là một trong những đáp ứng miễn dịch của sinh vật nhằm chống lại các tác nhân gây nhiễm trùng. Chính vì vậy chúng còn được gọi là các peptid kháng sinh (AMP - antimicrobial peptide).

Nọc độc của những loài côn trùng và lưỡng cư là một trong những nguồn quan trọng cung cấp các AMP tiềm năng [1-3]. Trong số đó, ong bắp cày được nghiên cứu nhiều nhất [4-6]. Tác dụng kháng khuẩn tốt đối với nhiều vi sinh vật gây bệnh bao gồm cả một số chủng kháng thuốc trên lâm sàng và khả năng gây tán huyết thấp đã làm cho các hợp chất này trở thành những ứng cử viên tiềm năng để phát triển thành thuốc chống nhiễm trùng [3]. Bên cạnh đó, các peptid từ nọc ong bắp cày còn sở hữu những hoạt tính sinh học đáng chú ý khác như ức chế tăng sinh

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: binhnguyen.smp@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4489>

khối u, kích thích giải phóng serotonin từ tiểu cầu, thoái hóa tế bào mast,... [7-9].

Mastoparan (MP) là một họ gồm các peptid nhỏ, được tìm thấy giới hạn trong phân bộ cánh nửa (Hemiptera) như nọc và tuyến nọc của một số loài ong bắp cày sống theo đàn hoặc đơn độc, phần lớn thuộc họ Vespidae, các chi như *Vespa*, *Polistes*, *Polybia*, *Protopolybia*, *Eumenes*,.... Các hợp chất này thường có cấu trúc tetradecapeptid, đầu C được amid hóa và tích điện dương. Khoảng 40 chuỗi peptid từ nọc ong bắp cày sống theo đàn và 6 chuỗi từ những loài đơn độc đã được mô tả. Kết quả nghiên cứu đã chứng tỏ các peptid thuộc họ này có nhiều tác dụng sinh học như kích hoạt protein G, kích hoạt phospholipase A<sub>2</sub>, C và D, giải phóng serotonin và insulin, kháng khuẩn, tán huyết, chống ung thư, thúc đẩy sự gia tăng Ca<sup>2+</sup> nội bào nhằm điều chỉnh quá trình giao tiếp giữa các tế bào [6].

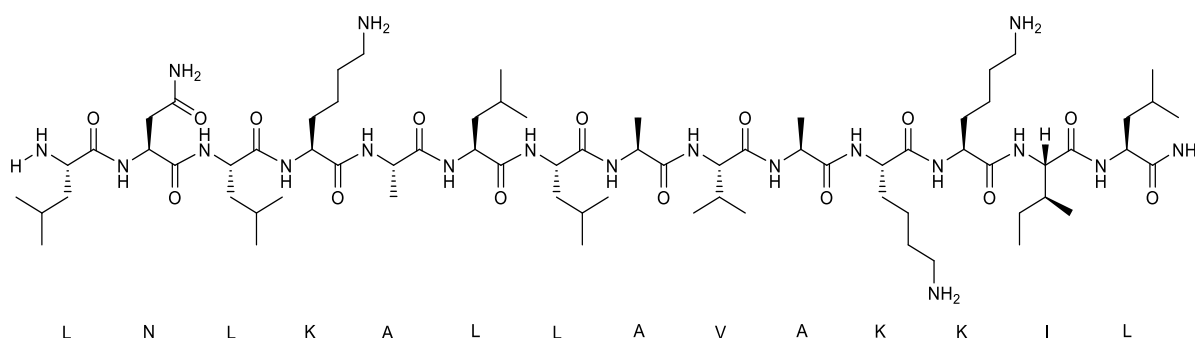
Bài tổng quan tập trung vào Mastoparan-C (MP-C), một hợp chất được phân lập đầu tiên từ nọc ong bắp cày châu Âu *Vespa crabro*. Hợp chất này có hàm lượng khoảng 57 nmol (86 µg)/túi, cao hơn so với nhiều loài ong bắp cày khác, chẳng hạn như MP-M và MP-T (từ *Vespa mandarinia* và *Vespa*

*tropica*) khoảng 20 nmol/túi; MP-L (*Vespa lewisii*), MP-X (*Vespa xanthoptera*) và một số MP từ chi *Polistes* có thể còn ít hơn nhiều so với 20 nmol/túi [10]. Để định hướng cho các nghiên cứu chuyên sâu nhằm khai thác triệt để tiềm năng của MP-C, cấu trúc, tác dụng sinh học, mối liên quan cấu trúc - tác dụng cũng như những thách thức trong quá trình phát triển hợp chất này sẽ được mô tả và phân tích.

## 2. Cấu trúc của Mastoparan C

### 2.1. Cấu trúc bậc một

MP-C có công thức phân tử C<sub>72</sub>H<sub>135</sub>N<sub>19</sub>O<sub>15</sub> với khối lượng mol bằng 1506,98 g/mol. Đây là một chuỗi peptid ngắn gồm 14 acid amin với trình tự Leu-Asn-Leu-Lys-Ala-Leu-Leu-Ala-Val-Ala-Lys-Lys-Ile-Leu-NH<sub>2</sub> hay H-LNLKALLAVAKKIL-NH<sub>2</sub>. Nhóm amino ở đầu N tồn tại dưới dạng tự do và nhóm carboxyl ở đầu C được amid hoá [6, 10]. Phân tử không chứa các acid amin đặc biệt như Cystein và Prolin. Cấu trúc bậc một của peptid này được thể hiện trong Hình 1.



Hình 1. Cấu trúc bậc 1 của Mastoparan C.

Tương tự như các MP khác, MP-C là một phân tử lưỡng phân với hàm lượng acid amin kỵ nước cao. Tỷ lệ giữa số acid amin kỵ nước (Leu, Ileu, Val, Ala) và thân nước (Asn, Lys) của MP-C là 10 : 4. Chỉ số thân dầu (H) và moment thân dầu (µH) của hợp chất này lần lượt là 0,399 và 0,634. Đặc tính lưỡng phân của phân tử tạo

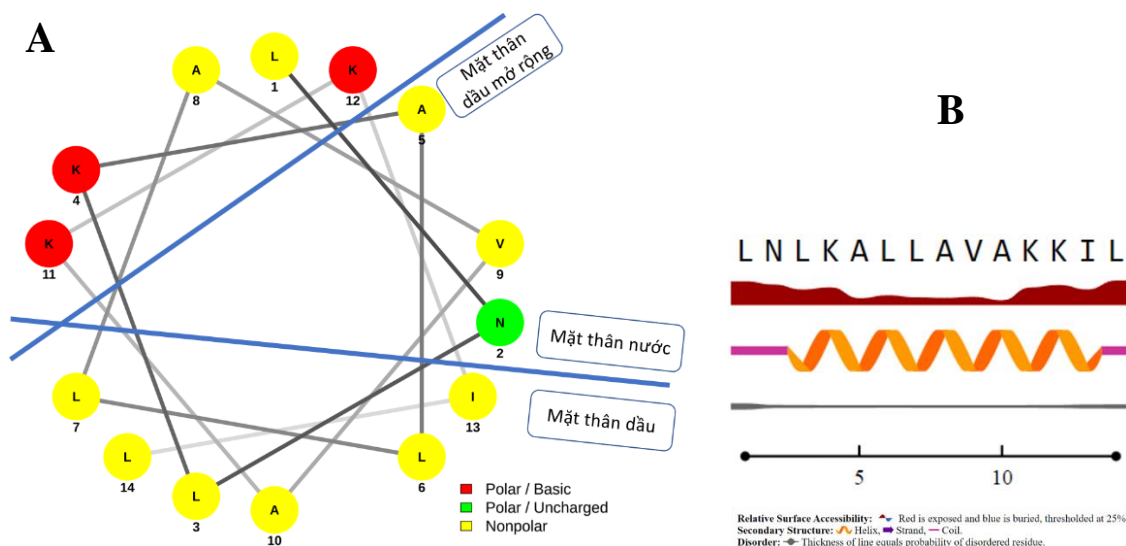
điều kiện thuận lợi cho việc liên kết với các phospholipid.

Phân tử MP-C tích điện dương với trị số +4, được đóng góp bởi 3 acid amin thân nước (-Lys-) ở các vị trí 4, 11, 12 và 1 nhóm amino tự do của acid amin thân dầu (-Leu-NH<sub>2</sub>) ở đầu N. Trong trình tự của các MP thiên nhiên thường có từ 1

đến 4 gốc Lysin tại các vị trí khác nhau, tạo nên sự biến thiên về trị số điện tích dương từ +1 đến +5 cũng như mật độ và sự phân bố điện tích trên toàn phân tử [6, 10, 11]. Đây là đặc điểm quan trọng đối với khả năng tương tác chọn lọc của các AMP nói chung với tế bào vi sinh vật gây bệnh. Các MP có 3 gốc Lysin từ ong bắp cày sống theo đàn (giống như *Vespa crabro*) thường nằm ở các vị trí: 2–8–9, 3–10–11, 4–5–11, 4–5–12, 4–11–12, 5–8–9. Trong đó 4–11–12 như trường hợp của MP-C là phổ biến nhất. Đối với ong bắp cày sống đơn độc, các vị trí này là 2–8–9 và 5–8–12 [6].

## 2.2. Cấu trúc bậc hai

Trong môi trường màng tế bào giả lập chứa 50% 2,2,2-trifluoroethanol, MP-C thể hiện cấu trúc xoắn alpha ( $\alpha$ ) điển hình. Trên quang phổ lưỡng sắc tròn của dung dịch quan sát thấy hai cực tiểu (negative peak) ở các bước sóng 208 nm, 222 nm và một cực đại (positive peak) ở 190 nm. Hàm lượng xoắn  $\alpha$  của MP-C trong dung dịch này là 24,85% [12]. Cấu trúc bậc hai theo vòng xoắn  $\alpha$  của MP-C được biểu diễn trong Hình 2.



Hình 2. Cấu trúc xoắn  $\alpha$  của Mastoparan C biểu diễn theo chiều ngang (A) [13] và chiều dọc (B) [14].

Xoắn  $\alpha$  là cấu trúc phổ biến nhất của các AMP tự nhiên. Cấu trúc này được ổn định bởi ba yếu tố chính là liên kết hydro tạo thành giữa các nhóm  $>N-H$  và  $>C=O$ , tương tác kỵ nước và tương tác tĩnh điện từ các mạch bên. Trên thực tế, MP-C cũng như hầu hết các AMP khác có cấu trúc xoắn ngẫu nhiên trong môi trường nước. Trong môi trường màng tế bào giả lập, một phần được chuyển đổi thành cấu trúc xoắn  $\alpha$ . Khi đó các gốc kỵ nước trong phân tử được định vị ở một mặt của chuỗi xoắn còn các gốc thân nước được định vị ở mặt bên kia. Một số AMP có thể mang cấu trúc phiến beta ( $\beta$ ) do tạo cầu nối disulfid như Tachyplesin, Protegrin, Bactenecin,... Một số khác sở hữu đồng thời cả

hai dạng  $\alpha$  và  $\beta$  chẳng hạn như Human beta defensin (HBD). Ngoài ra cũng có những AMP không mang cấu trúc bậc hai cổ điển do phân tử chứa hàm lượng Prolin và/hoặc Glycin cao [15].

## 3. Tác dụng sinh học

### 3.1. Tác dụng lên hệ miễn dịch

Tế bào mast hay dưỡng bào là một thành phần quan trọng của hệ miễn dịch cũng như hệ miễn dịch thần kinh, được tìm thấy trong các mô liên kết khắp cơ thể, đặc biệt là dưới da, gần mạch máu, mạch bạch huyết, trong dây thần

kinh, phổi và ruột. Các tế bào hiệu lực này chứa nhiều hạt giàu histamin và heparin, gắn liền với hoạt động của tế bào lympho T hỗ trợ (T CD4+) và globulin miễn dịch E (IgE). Chúng tham gia vào các đáp ứng viêm, quá trình miễn dịch tự nhiên và thu được. Sự thoái hóa hay thoái hạt tế bào mast (mast cell degranulation) giải phóng ra các chất trung gian, chẳng hạn như histamin và serotonin, đặc trưng cho hoạt tính sinh học của MP và các peptid giống MP. Những chất này ở dạng phân lập hoặc kết hợp với phospholipase A<sub>2</sub> gây ra các triệu chứng chính của phản ứng với nọc ong bắp cày như viêm, đau, phù nề,...

Ngay từ khi mới được phân lập, MP-C đã cho thấy khả năng kích thích giải phóng histamin từ tế bào mast phức tạp vượt công và kích thích

phospholipase A<sub>2</sub> tinh chế từ nhiều nguồn [10]. Các đáp ứng đáng kể trong những thử nghiệm khác nhau được quan sát thấy ở nồng độ peptid 2,5 µg/ml (1,7 µM) và đáp ứng tối đa ở khoảng 20-50 µg (13,3-33,2 µM). Khả năng kích thích giải phóng histamin của MP-C tương đương với Crabrolin, một AMP khác cũng được phân lập lần đầu tiên từ *Vespa crabro*, nhưng hiệu lực kích thích phospholipase A<sub>2</sub> lại mạnh hơn từ 2 đến 4 lần (Bảng 1). Phổ tác dụng rộng gợi ý rằng có lẽ MP-C cũng như các MP nói chung kích thích phospholipase A<sub>2</sub> trong cả nọc độc và nạn nhân của chúng. Hậu quả là thúc đẩy việc tạo ra axit arachidonic, tiền chất của prostaglandin và leukotrien – chất trung gian của các phản ứng bất lợi liên quan đến quá mẫn tức thì.

Bảng 1. So sánh tác dụng của Mastoparan-C với Crabrolin (cùng 47,5 µM) và Mastoparan (48,5 µM) trên sự thủy phân liposome bởi các phospholipase A<sub>2</sub> khác nhau tính theo lượng axit arachidonic được giải phóng (µg) [10]

Peptid	Nguồn phospholipase A <sub>2</sub>		
	Nọc ong	Rắn đuôi chuông	Tuyến tụy lợn
Mastoparan	12 ± 1,0	15 ± 1,2	48 ± 3,0
Mastoparan-C	10 ± 0,8	8 ± 0,5	22 ± 1,5
Crabrolin	7 ± 0,5	4 ± 0,3	5 ± 0,2

Bảng 2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng biofilm của Mastoparan-C trên một số chủng vi sinh vật [18]

Chủng vi sinh vật	MIC (µM)	MBC (µM)	MBIC (µM)	MBEC (µM)
<i>S. aureus</i>	2	2	4	64
<i>E. coli</i>	4	8		
<i>C. albicans</i>	4	4		
MRSA	4	4		
<i>P. aeruginosa</i>	8	16	32	128
<i>E. faecalis</i>	8	8		

MIC (minimal inhibitory concentration): nồng độ kìm khuẩn tối thiểu, 10<sup>5</sup> CFU/ml;  
MBC (minimum bactericidal concentration): nồng độ diệt khuẩn tối thiểu, 10<sup>5</sup> CFU/ml;  
MBIC (minimum biofilm inhibitory concentration): nồng độ ức chế biofilm tối thiểu, 10<sup>6</sup> CFU/ml;  
MBEC (minimum biofilm eradication concentration): nồng độ loại bỏ biofilm tối thiểu, 10<sup>6</sup>; CFU/ml, ủ 18 giờ ở 37 °C để tạo biofilm.

### 3.2. Kháng khuẩn, kháng nấm

MP-C có khả năng ức chế nhiều loại vi sinh vật, bao gồm cả vi khuẩn Gram dương, Gram âm và vi nấm, hầu hết ở nồng độ peptid 0,5 mM. Thử nghiệm tại nồng độ vi sinh vật 3,6x10<sup>8</sup> tế bào/ml

cho thấy hoạt tính của MP-C tăng dần trên các chủng *Escherichia coli* (*E. coli*; nồng độ kìm khuẩn tối thiểu (MIC) > 1000 µM), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) và *Botrytis cinerea* (cùng MIC ≈ 500 µM), *Candida albicans* (*C. albicans*; MIC ≈ 100 µM). Khi so

sánh với một số MP khác, hoạt tính của MP-C trên *E. coli* và *C. albicans* thấp hơn 2 lần MP-A từ *Vespa analis* [16]; trên cả 4 chủng thấp hơn khoảng 4-100 lần MP-L từ *Vespula lewisii* [17].

Trong một nghiên cứu khác, MP-C cho thấy tác dụng kháng lại 6 chủng vi sinh vật bao gồm Gram dương (*S. aureus*, *S. aureus* kháng methicillin (MRSA), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)), Gram âm (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)) và nấm men (*C. albicans*). MP-C cũng có khả năng ngăn cản sự hình thành lớp màng sinh học (biofilm) của *S. aureus* và *P. aeruginosa*. Tuy nhiên, hiệu quả trên việc loại bỏ lớp màng sinh học đã tồn tại kém hơn (Bảng 2) [18].

Tác dụng của MP-C trên các vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*, *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*))

và Gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)) cũng được báo cáo. Tại nồng độ vi sinh vật  $5 \times 10^5$  CFU/ml, MIC của hợp chất này đối với 3 chủng đầu là 4  $\mu$ M và 2 chủng sau là 8  $\mu$ M. So sánh với một số kháng sinh (Bảng 3) cho thấy MP-C tác dụng yếu hơn gentamicin trên hầu hết các chủng thử nghiệm và khác biệt 1-4 lần so với polymyxin B. Tác dụng của MP-C trên Gram dương yếu hơn kanamycin, vancomycin, rifampin nhưng trên Gram âm lại mạnh hơn. Trong thử nghiệm đề kháng, khi được xử lý với MP-C ở nồng độ thấp hơn MIC, *E. coli* khó phát triển thành chủng đề kháng. Mặt khác, MP-C duy trì hiệu lực trên *E. coli* đột biến kháng rifampin với giá trị MIC tương tự như trên chủng không đột biến [12].

Bảng 3. So sánh hoạt tính kháng khuẩn của Mastoparan-C với một số kháng sinh qua MIC và hiệu quả của phối hợp MP-C với một số kháng sinh qua FICI, nồng độ vi sinh vật là  $5 \times 10^5$  CFU/ml [12]

Hoạt chất	MIC ( $\mu$ M)					FICI	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Mastoparan-C	4	4	4	8	8		
Gentamicin	< 1	< 1	< 1	< 1	8	0,625	0,5625
Kanamycin	< 1	< 1	8	> 128	64		
Vancomycin	< 1	< 1	64	> 128	128		
Rifampin	< 1	< 1	8	32	32	0,75	0,75
Polymyxin B	16	8	4	4	8	0,5625	0,3125

Phối hợp giữa MP-C với các kháng sinh thông thường như gentamicin, rifampin, polymyxin B cho tác dụng tốt trên các vi khuẩn *E. coli* và *P. aeruginosa*. Chỉ số nồng độ ức chế phân đoạn (FICI, fractional inhibitory concentration index) đều nhỏ hơn 1 (Bảng 3) cho thấy hiệu quả cộng hợp hoặc hiệp đồng. Đáng chú ý là phối hợp MP-C với polymyxin B tạo tác dụng hiệp đồng trên *P. aeruginosa* với FIC nhỏ hơn 0,5.

### 3.3. Kháng ung thư

MP-C thể hiện hoạt tính kháng tăng sinh phổ rộng, trên nhiều dòng tế bào ung thư người. Ở nồng độ 100  $\mu$ M, MP-C làm giảm tỷ lệ sống sót của các dòng tế bào ung thư buồng trứng SK-OV-3 và NIH:OVCAR sau 24 và 72 giờ tiếp

xúc. Hoạt tính này có phần thấp hơn so với MP-A từ *Vespa analis*, có thể là do MP-C sở hữu ít hơn 1 acid amin mang điện tích dương nên tương tác với màng tế bào yếu hơn [16].

Bảng 4. Độc tính của Mastoparan-C trên một số dòng tế bào ung thư người [18]

Dòng tế bào	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
H157	13,57
MDA-MB-435S	27,70
PC-3	6,29
U251MG	36,65
MCF-7	25,27

Khả năng ức chế sự tăng sinh của MP-C đối với 5 dòng tế bào ung thư người, bao gồm ung

thư phổi không phải tế bào nhỏ H157, ung thư tế bào hắc tố MDA-MB-435S, ung thư biểu mô tuyến tiền liệt PC-3, u nguyên bào thần kinh đệm U251MG và ung thư vú MCF-7 được thể hiện trong Bảng 4. Trong đó, hoạt tính trên dòng PC-3 là mạnh nhất với nồng độ ức chế tối đa một nửa ( $IC_{50}$ , half maximal inhibitory concentration) là 6,29  $\mu$ M [18].

### 3.4. Độc tính với các tế bào không phải ung thư

Bên cạnh hoạt tính kháng khuẩn và kháng ung thư tốt, MP-C có độc tính đáng lưu ý là khả năng gây tan máu động vật có vú. Thử nghiệm trên hồng cầu chuột lang cho thấy hoạt tính tán huyết của MP-C mạnh hơn so với Crabrolin. Ở nồng độ 25  $\mu$ g/ml (16,6  $\mu$ M), MP-C gây tán huyết hơn 90%, gấp khoảng 2,5 lần Crabrolin [10]. Nồng độ thấp nhất gây tán huyết 10% hồng cầu chuột nhất là 64  $\mu$ M [12]. Nồng độ gây tán huyết 50% hồng cầu ngựa là 40,11  $\mu$ M [18].

May mắn là độc tính của MP-C chỉ thể hiện một cách hạn chế đối với hồng cầu người trong khoảng nồng độ 10-200  $\mu$ M. Tại nồng độ 200  $\mu$ M, khả năng gây tán huyết của MP-C thấp hơn khoảng 7 lần so với MP-A từ *Vespa analis*. MP-C thể hiện hoạt tính chống ung thư ở nồng độ thấp hơn so với nồng độ cần thiết gây tán huyết hồng cầu người, cho thấy hợp chất này có thể mang độc tính chọn lọc cao hơn đối với các tế bào khối u [16].

Độc tính của MP-C đối với một số loại tế bào khác cũng được báo cáo.  $IC_{50}$  của MP-C trên các tế bào có nguồn gốc từ thận phổi người HEK293t là 16  $\mu$ M, gấp 2,5 lần so với trung bình nhân của các giá trị MIC trên 5 chủng vi sinh vật thử nghiệm [12]. HEK293t cũng có thể được sử dụng như một biện pháp kiểm soát trong những nghiên cứu về tác động của phương pháp điều trị đối với các dòng tế bào ung thư cụ thể.  $IC_{50}$  của MP-C đối với dòng tế bào nội mô vi mạch bình thường ở người HMEC-1 là 57,15  $\mu$ M, cao hơn từ 1,5 đến 9 lần so với các dòng tế bào ung thư người H157, MDA-MB-435S, PC-3, U251MG, MCF-7 [18]. Điều này một lần nữa cho thấy tác dụng chọn lọc hơn của MP-C trên các tế bào khối u.

## 4. Sự ổn định đối với dịch sinh học

Kém ổn định trong các dịch sinh học là một trong những trở ngại chính đối với việc ứng dụng *in vivo* của các thuốc có bản chất peptid. Đặc tính này có thể được đánh giá trực tiếp bằng cách phân tích sắc ký hoặc gián tiếp bằng cách so sánh hoạt tính kháng khuẩn của peptid trước và sau khi ủ với dịch sinh học hoặc các yếu tố có trong dịch sinh học.

Kết quả nghiên cứu cho thấy MP-C có khả năng kháng lại các enzyme gây thoái biến protein trong dịch tiêu hóa như trypsin và chymotrypsin ở mức độ vừa phải [12]. Khi được ủ trong môi trường chứa 10% huyết thanh bào thai bò ở 37 °C, MP-C bị phân hủy với tốc độ dường như tuyến tính (3,54% giờ<sup>-1</sup>). Ước tính lượng peptid còn lại sau 2, 4, 8, 16 và 24 giờ lần lượt là khoảng 95, 80, 65, 25 và 10% [18].

## 5. Liên quan cấu trúc - tác dụng

Cơ chế tác dụng chính được biết đến của các AMP thuộc họ MP là phá vỡ màng và làm chết tế bào gây bệnh. Các MP tương tác tĩnh điện với bề mặt màng thông qua các axit amin tích điện dương trong cấu trúc chuỗi xoắn  $\alpha$ . Đây là bước đầu tiên giúp peptid tiếp cận và tạo điều kiện cho mặt thân dầu tương tác với lớp lipid kép cũng như các thành phần thân dầu khác của màng [1, 19, 20]. Nhiều peptid với khung cấu trúc tương tự MP-C cũng được chứng minh là có khả năng xâm nhập vào bên trong tế bào, tạo ra các tổn thương đối với màng của các bào quan khác hoặc gây ảnh hưởng đến các chức năng nội bào, qua đó cũng gây chết tế bào [11, 13, 19]. Vì vậy, các yếu tố quan trọng đối với hoạt tính của MP-C là trình tự sắp xếp axit amin, cấu trúc xoắn, độ dài chuỗi, điện tích dương và tính kỵ nước [3, 13, 21].

Peptid cần phải có độ dài chuỗi ở mức thích hợp để đảm bảo khả năng tương tác hiệu quả với màng tế bào đích [22]. Điều này được khẳng định trong nghiên cứu gần đây của N. Zhu và cộng sự (2021). Khi tiến hành cắt ngắn chuỗi MP-C, nhóm tác giả nhận thấy mặc dù cải thiện tác dụng gây tan máu, hoạt tính kháng khuẩn

giảm mạnh trên cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm [12].

Liên quan đến điện tích của peptid, nhiều nghiên cứu cho thấy sự tăng cường điện tích dương đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện hoạt tính kháng khuẩn. Điều này được giải thích thông qua sự tăng cường tương tác tĩnh điện giữa phân tử với màng tế bào vi khuẩn và tế bào ung thư vốn có nhiều thành phần tích điện âm [22-25]. Để tăng cường điện tích dương cho peptid, cần thay thế các axit amin không tích điện vốn có của chuỗi bằng các axit amin có khả năng tích điện dương. Khi thay thế một số axit amin thân dầu, không tích điện trong phân tử MP-C như Leucin (L1), Alanin (A5, A8) bằng Lysin (K) một axit amin thân nước, tích điện dương thu được các dẫn xuất L1K, A5K, A5KA8K. Các peptid này có hoạt tính kháng khuẩn được cải thiện hoặc giữ nguyên đồng thời độc tính trên tế bào máu giảm mạnh, qua đó, tính chọn lọc được tăng thêm từ 2-5 lần [12].

Kết quả nghiên cứu vừa trình bày cũng cho thấy tương quan giữa hai mặt thân dầu và thân nước ảnh hưởng lớn đến tác dụng sinh học và độc tính của MP-C nói riêng cũng như của các AMP nói chung. Đáng chú ý, việc thay thế một số axit amin thân dầu của MP-C bằng axit amin có tính thân dầu kém hơn (ví dụ như Leucin thành Alanin hoặc Glycin, Valin thành Alanin) cũng giúp cải thiện rõ rệt tính chọn lọc. Hơn thế nữa, ba phiên bản cải tiến L1G, L7A và L1GA5K khi được kết hợp với các kháng sinh thông thường như gentamicin, rifampin và polymyxin B cho tác dụng hiệp đồng chống lại *E. coli* và *P. aeruginosa*. Ngoài việc không thể hiện độc tính đối với hồng cầu của chuột và tế bào HEK293T, chúng còn cho thấy khả năng chống viêm và chứng minh được sự an toàn trên mô hình *in vivo*. Đặc biệt, L1GA5K thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với vi khuẩn *E. coli* kháng rifampin. Các kết quả hứa hẹn này cho thấy mặt thân dầu của MP-C tự nhiên đang mạnh và mở rộng hơn mức cần thiết, do vậy, những cải tiến cấu trúc theo hướng làm giảm tính thân dầu nhiều khả năng cho phép gia tăng tác dụng sinh học có lợi đồng thời giúp giảm thiểu tác dụng phụ [12].

## 6. Thách thức trong quá trình nghiên cứu phát triển Mastoparan

Các phân tích trên đây cho thấy MP-C sở hữu nhiều tác dụng sinh học quan trọng như kháng khuẩn, kháng nấm và kháng ung thư phổ rộng. Mặc dù vậy, khả năng gây tan máu là tác dụng phụ đáng quan tâm của hợp chất này. Tuy nhiên, độc tính đối với hồng cầu có thể được cải thiện thông qua việc cải tiến cấu trúc bằng cách thay thế một số axit amin thân dầu bằng axit amin ít thân dầu hơn hoặc thân nước tích điện dương.

Bên cạnh đó, độ bền sinh học của peptid trong các môi trường khác nhau cũng cần được chú ý. Đặc biệt là trong bối cảnh các phiên bản có điện tích dương cao hơn (thu được nhờ việc tăng số lượng Lysin hoặc Arginin trong chuỗi) thể hiện tác dụng chọn lọc tốt hơn nhưng cũng làm tăng khả năng bị thủy phân của peptid bởi enzyme tiêu hoá trypsin. Trong nghiên cứu gần đây, X. Chen và cộng sự (2018) tìm cách cải tiến cấu trúc của MP-C thông qua việc chuyển peptid từ dạng mạch thẳng sang mạch vòng c-MP-C [18]. Mặc dù phương pháp này đã cải thiện được độ bền trong dịch sinh học mô phỏng nhưng lại làm suy giảm nghiêm trọng hoạt tính của MP-C. Vì vậy trong tương lai, việc tìm ra các biện pháp nhằm duy trì độ ổn định của peptid trong dịch sinh học là rất cần thiết.

Ngoài ra, do phân tử có kích thước lớn (trên 1500 Daltons) và chứa nhiều nhóm thân nước, khả năng hấp thu của peptid qua các hàng rào sinh học là rất hạn chế [13, 26]. Vì vậy, việc phát triển được các hệ đưa thuốc giúp tăng cường độ ổn định và khả năng hấp thu sẽ giúp phát huy tối đa tiềm năng của MP-C cũng như các AMP nói chung.

Qua phân tích cho thấy bản thân MP-C còn tồn tại những hạn chế về mặt độc tính, độ ổn định trong dịch sinh học cũng như sinh khả dụng qua màng nên chưa thể sử dụng trực tiếp để phát triển thành thuốc điều trị cho người được. Tuy vậy, khung phân tử của hợp chất này lại rất có tiềm năng trong lĩnh vực khám phá thuốc. Những cải tiến về mặt cấu trúc như đã chỉ ra ở trên, cụ thể là tăng cường điện tích dương, thay đổi tương quan giữa mặt thân dầu và thân nước, ổn định



cấu trúc xoắn  $\alpha$  đồng thời ứng dụng các hệ đưa thuốc phù hợp sẽ cho ra đời các sản phẩm kháng khuẩn, kháng ung thư phổ rộng, hiệu lực cao, độc tính thấp, sinh khả dụng bằng đường ngoại mạch tốt.

## 7. Kết luận

MP-C là một trong những AMP nổi bật thuộc họ MP. Các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy những đặc tính sinh học quý giá của peptid tự nhiên này như khả năng kháng khuẩn, kháng nấm phổ rộng cùng hoạt tính mạnh trên nhiều dòng tế bào ung thư. Từ việc phân tích mối liên quan cấu trúc - tác dụng đã chỉ ra được những thách thức và xác định được phương hướng nhằm khai thác tiềm năng của MP-C trong lĩnh vực phát minh thuốc. Tuy vậy, cho đến nay chưa tìm thấy công bố trong nước nào về MP-C. Thời gian tới, các tác giả nhằm đến hai chiến lược chủ yếu là cải tiến cấu trúc để thu được những dẫn xuất của MP-C có tác dụng sinh học tốt, ít tác dụng phụ, ổn định đối với dịch sinh học và phát triển những dạng bào chế thích hợp cho phép gia tăng khả năng hấp thu của các chất này qua màng sinh học.

## Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG.22.67 “Tổng hợp pha rắn, đánh giá tác dụng kháng khuẩn và độ bền đối với enzyme tiêu hóa của một số peptid cải tiến từ Mastoparan C” của Đại học Quốc gia Hà Nội.

## Tài liệu tham khảo

- [1] H. X. Luong, D. H. Kim, B. J. Lee, Y. W. Kim, Antimicrobial Activity and Stability of Stapled Helices of Polybia-MP1, *Archives of Pharmacal Research*, Vol. 40, 2017, pp. 1414-1419, <https://doi.org/10.1007/s12272-017-0963-5>.
- [2] M. Magana, M. Pushpanathan, A. L. Santos, L. Leanse, M. Fernandez, A. Ioannidis, M. A. Giulianotti, Y. Apidianakis, S. Bradfute, A. L. Ferguson, A. Cherkasov, M. N. Seleem, C. Pinilla, C. D. L. F. Nunez, T. Lazaridis, T. Dai, R. A. Houghten, R. E. W. Hancock, G. P. Tegos, the Value of Antimicrobial Peptides in the Age of Resistance, *the Lancet Infectious Diseases*, Vol. 20, 2020, pp. e216-e230, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3).
- [3] H. X. Luong, H. D. Ngan, H. B. T. Phuong, T. N. Quoc, T. T. Tung, Multiple Roles of Ribosomal Antimicrobial Peptides in Tackling Global Antimicrobial Resistance, *Royal Society Open Science*, Vol. 9, 2022, pp. 211583, <https://doi.org/10.1098/rsos.211583>.
- [4] G. Shi, X. Kang, F. Dong, Y. Liu, N. Zhu, Y. Hu, H. Xu, X. Lao, H. Zheng, DRAMP 3.0: an Enhanced Comprehensive Data Repository of Antimicrobial Peptides, *Nucleic Acids Res*, Vol. 50, 2022, pp. D488-D496, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab651>.
- [5] G. Wang, X. Li, Z. Wang, APD3: the Antimicrobial Peptide Database As A Tool for Research and Education, *Nucleic Acids Res*, Vol. 44, 2016, pp. D1087-D1093, <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1278>.
- [6] C. J. C. D. Santana, O. R. P. Júnior, W. Fontes, M. S. Palma, M. S. Castro, Mastoparans: A Group of Multifunctional  $\alpha$ -Helical Peptides with Promising Therapeutic Properties, *Frontiers in Molecular Biosciences*, Vol. 9, 2022, pp. 824989, <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.824989>.
- [7] K. Konno, M. Hisada, H. Naoki, Y. Itagaki, R. Fontana, M. Rangel, J. S. Oliveira, M. P. D. S. Cabrera, J. R. Neto, I. Hide, Eumenitin, A Novel Antimicrobial Peptide from the Venom of the Solitary Eumenine Wasp *Eumenes Rubronotatus*, *Peptides*, Vol. 27, 2006, pp. 2624-2631, <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2006.04.013>.
- [8] V. Čerovský, J. Slaninová, V. Fučík, H. Hulačová, L. Borovičková, R. Ježek, L. Bednárová, New Potent Antimicrobial Peptides from the Venom of Polistinae Wasps and Their Analogs, *Peptides*, Vol. 29, 2008, pp. 992-1003, <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.02.007>.
- [9] C. H. Lin, M. C. Lee, J. T. Tzen, H. M. Lee, S. M. Chang, W. C. Tu, C. F. Lin, Efficacy of Mastoparan-AF Alone and in Combination with Clinically Used Antibiotics on Nosocomial Multidrug-Resistant *Acinetobacter Baumannii*, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol. 24, 2017, pp. 1023-1029, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.013>.
- [10] A. Argiolas, J. J. Pisano, Isolation and Characterization of Two New Peptides, Mastoparan C and Crabrolin, from the Venom

- of the European Hornet, *Vespa Crabro*, Journal of Biological Chemistry, Vol. 259, 1984, pp. 10106-10111.
- [11] H. L. Xuan, T. D. Duc, A. M. Thuy, P. M. Chau, T. T. Tung, Chemical Approaches in the Development of Natural Nontoxic Peptide PolybiAMP1 As A Potential Dual Antimicrobial and Antitumor Agent, *Amino Acids*, Vol. 53 2021, pp. 843-852, <https://doi.org/10.1007/s00726-021-02995-9>.
- [12] N. Zhu, C. Zhong, T. Liu, Y. Zhu, S. Gou, H. Bao, J. Yao, J. Ni, Newly Designed Antimicrobial Peptides with Potent Bioactivity and Enhanced Cell Selectivity Prevent and Reverse Rifampin Resistance in Gram-Negative Bacteria, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 158, 2021, pp. 105665, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105665>.
- [13] A. R. Mól, M. S. Castro, W. Fontes, Net Wheels: A Web Application to Create High Quality Peptide Helical Wheel and Net Projections, *BioRxiv*, 2018, pp. 416347, <https://doi.org/10.1101/416347>.
- [14] B. Petersen, T. N. Petersen, P. Andersen, M. Nielsen, C. Lundegaard, A Generic Method for Assignment of Reliability Scores Applied to Solvent Accessibility Predictions, *BMC Structural Biology*, Vol. 9, 2009, pp. 51, <https://doi.org/10.1186/1472-6807-9-51>.
- [15] H. X. Luong, T. T. Thanh, T. H. Tran, Antimicrobial Peptides – Advances in Development of Therapeutic Applications, *Life Sciences*, Vol. 260, 2020, pp. 118407, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118407>.
- [16] K. A. Yoon, K. Kim, P. Nguyen, J. B. Seo, Y. H. Park, K. G. Kim, H. Seo, Y. H. Koh, S. H. Lee, Comparative Bioactivities of Mastoparans from Social Hornets *Vespa Crabro* and *Vespa Analis*, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, Vol. 18, 2015, pp. 825-829, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aspen.2015.10.006>.
- [17] J. H. Baek, Y. Ji, J. S. Shin, S. Lee, S. H. Lee, Venom Peptides from Solitary Hunting Wasps Induce Feeding Disorder in Lepidopteran Larvae, *Peptides*, Vol. 32, 2011, pp. 568-572, <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2010.12.007>.
- [18] X. Chen, L. Zhang, Y. Wu, L. Wang, C. Ma, X. Xi, O. R. P. B. Emonds, C. Shaw, T. Chen, M. Zhou, Evaluation of the Bioactivity of A Mastoparan Peptide from Wasp Venom and of its Analogues Designed Through Targeted Engineering, *International Journal of Biological Sciences*, Vol. 14, 2018, pp. 599-607, <http://dx.doi.org/10.7150/ijbs.23419>.
- [19] A. M. B. D. Silva, L. C. S. Gonçalves, F. A. Oliveira, M. A. Miranda, Pro-necrotic Activity of Cationic Mastoparan Peptides in Human Glioblastoma Multiforme Cells Via Membranolytic Action, *Molecular Neurobiology*, Vol. 55 2018, pp. 5490-5504, <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-017-0782-1>.
- [20] D. S. Alvares, T. G. Viegas, J. R. Neto, The Effect of pH on the Lytic Activity of A Synthetic Mastoparan-like Peptide in Anionic Model Membranes, *Chemistry and Physics of Lipids*, Vol. 216, 2018, pp. 54-64, <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2018.09.005>.
- [21] B. P. Lazzaro, M. Zasloff, J. Rolff, Antimicrobial Peptides: Application Informed by Evolution, *Science*, Vol. 368, 2020, pp. eaau5480, <https://doi.org/10.1126/science.aau5480>.
- [22] H. X. Luong, H. T. P. Bui, T. T. Tung, Application of the All-hydrocarbon Stapling Technique in the Design of Membrane-active Peptides, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 65, 2022, pp. 3026-3045, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01744>.
- [23] P. Tan, H. Fu, X. Ma, Design, Optimization, and Nanotechnology of Antimicrobial Peptides: from Exploration to Applications, *Nano Today*, Vol. 39, 2021, pp. 101229, <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101229>.
- [24] E. M. Kohn, D. J. Shirley, L. Arotzky, A. M. Picciano, Z. Ridgway, M. W. Urban, B. R. Carone, G. A. Caputo, Role of Cationic Side Chains in the Antimicrobial Activity of C18G, *Molecules*, Vol. 23, 2018, pp. 329, <https://doi.org/10.3390/molecules23020329>.
- [25] B. M. D. Souza, M. P. D. S. Cabrera, P. C. Gomes, N. B. Dias, R. G. Stabeli, N. B. Leite, J. R. Neto, M. S. Palma, Structure–activity Relationship of Mastoparan Analogs: Effects of the Number and Positioning of Lys Residues on Secondary Structure, Interaction with Membrane-Mimetic Systems and Biological Activity, *Peptides*, Vol. 72, 2015, pp. 164-174, <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.021>.
- [26] C. Wang, T. Hong, P. Cui, J. Wang, J. Xia, Antimicrobial Peptides Towards Clinical Application: Delivery and Formulation, *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 175, 2021, pp. 113818, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.028>.