



Review Article

Efflux Pumps and These Inhibitors

Thai Khac Minh^{1,*}, Tran Thanh Dao¹, Phan Thien Vy², Do Tran Giang Son¹,
Hoang Tung¹, Nguyen Hoang Minh¹, Le Minh Tri^{1,3}

¹*Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City,
41 Dinh Tien Hoang, Dist. 1, Ho Chi Minh City, Vietnam*

²*Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University,
300A Nguyen Tat Thanh, Dist. 4, Ho Chi Minh City, Vietnam*

³*School of Medicine, Vietnam National University Ho Chi Minh City,
16/40 QL1A, Linh Trung Ward, Dist. Thu Duc, Ho Chi Minh City, Vietnam*

Received 25 October 2019

Revised 05 November 2019; Accepted 06 November 2019

Abstract: In this era of multi-drug resistance, efflux pump is one of the major problems which is increasingly concerned by scientists. The structure and mechanism activity of the efflux pumps on both bacteria and eukaryotes that are gradually being clarified. Since then, efflux pump inhibitors have also been studied and initially applied in clinic, that makes an important contribution to preventing the outbreak of multi-resistant infections and cancers. Efflux pump inhibitors are often small synthetic molecules or plant metabolites that show great promise in inhibiting multi-resistant in both bacteria and cancerous cells.

Keywords: Efflux pump, EPI, bacteria, cancer, MRD.

* Corresponding author.

Email address: thaikhacminh@ump.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4188>



Bơm ngược và các chất ức chế bơm ngược

Thái Khắc Minh^{1,*}, Trần Thành Đạo¹, Phan Thiện Vy², Đỗ Trần Giang Sơn¹,
Hoàng Tùng¹, Nguyễn Hoàng Minh¹, Lê Minh Trí^{1,3}

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, 42 Đinh Tiên Hoàng, Q1, Tp.HCM, Việt Nam

²Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, 300A Nguyễn Tất Thành, Q.4, Tp. HCM, Việt Nam

³Khoa Y, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh,
16/40 QL1A, Phường Linh Trung, Thủ Đức, Tp.HCM, Việt Nam

Nhận ngày 25 tháng 10 năm 2019

Chỉnh sửa ngày 05 tháng 10 năm 2019; Chấp nhận đăng ngày 06 tháng 10 năm 2019

Tóm tắt: Trong kỷ nguyên đa đề kháng hiện nay, bơm ngược là một trong những cơ chế chính ngày càng được quan tâm. Cấu trúc và cơ chế hoạt động của các bơm ngược trên cả vi khuẩn và tế bào nhân thật đang dần được làm sáng tỏ. Từ đó, các chất ức chế bơm ngược cũng được nghiên cứu và bước đầu ứng dụng vào lâm sàng, góp phần quan trọng vào việc ngăn chặn sự bùng phát của bệnh nhiễm khuẩn và ung thư đa kháng. Các chất ức chế bơm ngược thường là các phân tử tổng hợp nhỏ hoặc các chất chuyển hóa thực vật cho thấy nhiều hứa hẹn trong việc ức chế đa đề kháng ở cả vi khuẩn và tế bào ung thư.

Từ khóa: Bơm ngược, chất ức chế bơm ngược, vi khuẩn, ung thư, đa đề kháng.

1. Giới thiệu

Kháng thuốc đang là vấn đề nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng hiện nay, đặc biệt trong việc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn và ung thư. Sự xuất hiện ngày càng nhiều các kiểu hình đa kháng thuốc (Multi-drug resistant - MDR) ở vi khuẩn và các tế bào ung thư đòi hỏi các nhà nghiên cứu phải tập trung làm rõ cơ chế kháng thuốc và tìm ra cách ngăn chặn sự xuất hiện các đột biến gây kháng thuốc. Bơm ngược là một

trong những cơ chế quan trọng ở cả tế bào vi khuẩn và động vật có vú nhằm ngăn chặn hoạt động của các tác nhân hóa trị liệu từ đó dẫn đến việc kháng thuốc mạnh mẽ.

Nhiều sản phẩm tổng hợp và tự nhiên đã được tìm thấy có tác dụng ức chế hoặc điều tiết bơm ngược, còn được gọi là chất ức chế bơm ngược (Efflux pump inhibitor – EPI) [1]. Có nhiều lý do cho việc theo đuổi lĩnh vực nghiên cứu này. Đầu tiên, các EPI giúp khôi phục tính

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: thaikhackminh@ump.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4188>

mẫn cảm với kháng sinh/kháng ung thư, sử dụng đồng thời một EPI với thuốc kháng sinh/kháng ung thư có thể làm giảm mức độ đề kháng của vi khuẩn/tế bào ung thư [2]. Thứ hai, các EPI phân tử nhỏ kết hợp với thuốc điều trị giúp mở rộng phổ kháng khuẩn, làm giảm tần suất đề kháng do khả năng ngăn chặn sự xuất hiện các chủng đột biến mới [3]. Thứ ba, các EPI làm giảm sự hình thành màng sinh học và ức chế khả năng kháng khuẩn của màng sinh học [4]. Thứ tư, một số thực vật sản xuất đồng thời cả hợp chất kháng sinh và EPI, giúp cải thiện hoạt động kháng khuẩn của chúng, ví dụ như kháng sinh berberin và EPI 5' methoxygydnocarpin ở *Berberis* [5]. Do đó, EPI có thể làm giảm tần suất đa đề kháng và tăng hiệu quả của kháng sinh/kháng ung thư khi sử dụng kết hợp. Số lượng bài báo ngày càng tăng trong vài năm qua cho thấy sự quan tâm ngày càng lớn đối với lĩnh vực EPI.

Bài viết được thực hiện nhằm mục đích giúp người đọc có một cái nhìn tổng thể về tình hình nghiên cứu và phát triển các chất ức chế bơm ngược. Tổng quan về EPI này là một xuất phát điểm hữu ích cho việc nghiên cứu các loại thuốc kháng khuẩn hoặc kháng ung thư mới có hiệu quả.

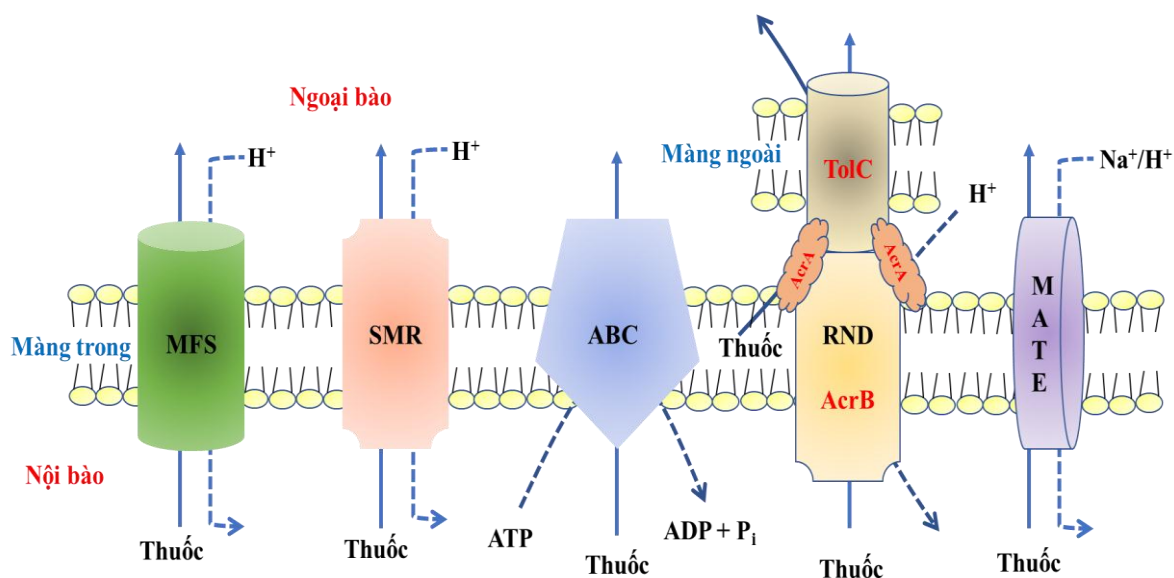
2. Bơm ngược ở vi khuẩn

Một số nghiên cứu cho thấy bơm ngược có ít nhất bốn vai trò khác nhau trong cấu trúc màng sinh học: tạo thuận lợi cho việc hình thành ma trận màng sinh học; điều hòa gián tiếp các gen liên quan đến sự hình thành màng sinh học; đẩy các phân tử có hại ra ngoài như kháng sinh và các chất trao đổi trung gian; và ảnh hưởng đến sự bám dính của các chất hoặc các tế bào khác vào bề mặt tế bào. [6]

Những bơm ngược ở vi khuẩn về cơ bản được chia thành 6 họ chính, bao gồm MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic extrusion), SMR (small multi-drug resistance), ABC (ATP-binding cassette), RND (resistance-nodulation-division) và PACE (proteobacterial antimicrobial compound efflux) [7].

Họ PACE chỉ mới được xác định gần đây trong một số vi khuẩn Gram âm. Do đó, cơ chế phân tử của nó về cách thức vận chuyển, năng lượng hoạt hóa chưa được xác định, nhưng có thể liên quan đến gradient điện hóa [8].

ABC sử dụng ATP như một nguồn năng lượng để bơm độc tố ra ngoài, trong khi bốn họ còn lại sử dụng gradient điện hóa [9], xem Hình 1.



Hình 1. Năm họ bơm ngược cơ bản ở vi khuẩn: MATE, SMR, MFS, ABC, RND.

MFS là họ lớn nhất của hệ thống bơm ngược với các cơ chất bao gồm đường, chất dẫn truyền thần kinh, acid amin, chất chuyển hóa chu trình Krebs và thuốc. Hầu hết các bơm ngược nhóm MFS đều có từ 400-600 acid amin và có từ 12-14 chuỗi protein xuyên màng. Các bơm ngược nhóm MFS thường gặp ở vi khuẩn bao gồm bơm TetA đẩy tetracyclin, MdfA (*Escherichia coli*), EmrD-3 (*Vibrio cholerae*), LmrS (*Staphylococcus aureus*), Mdt(A) (*Lactococcus lactis* và *L. garvieae*), QacA và QacB (*Staphylococcus aureus*), NorA, NorB và NorC (*Staphylococcus aureus*). [10]

SMR bao gồm những bơm nhỏ thường gặp trong các loài vi khuẩn. Các protein này dài khoảng 100 acid amin, với bốn chuỗi xoắn xuyên màng. Ví dụ như EbrAB (*Bacillus subtilis*) hoặc Smr, QacG, QacH (*Staphylococcus aureus*) [11].

Tất cả bơm ngược họ ABC chứa 4 thành phần, gồm 2 chuỗi protein liên kết và hai chuỗi protein xuyên màng. Bơm trong họ gồm LmrA (*Lactococcus lactis*) và Rv1217c-Rv1218c (*Mycobacterium tuberculosis*) [12].

Bơm ngược RND có vai trò quan trọng trong tính kháng kháng sinh nội tại ở vi khuẩn Gram âm, một kiểu hình “siêu tự nhiên”. Bơm ngược họ này còn được tìm thấy trong vi khuẩn Gram dương nhưng chưa biết rõ chức năng [13].

Hầu hết các bơm ngược họ MATE bao gồm 400-550 acid amin với 12 chuỗi protein xuyên màng, các bơm ngược này có trình tự tương tự khoảng 40%. Một ví dụ về bơm MATE trong vi khuẩn Gram dương là MepA được tìm thấy trong *Staphylococcus aureus* [9]. Hiện tại, không có cấu trúc có độ phân giải cao nào cho họ bơm ngược này. Các dự đoán cấu trúc thứ cấp cho thấy có sự đối xứng lặp lại của các vùng của protein.

Bơm ngược trong vi khuẩn Gram dương có thể được chia thành bốn họ, cụ thể là ABC, MFS, SMR, và MATE [14].

Đối với vi khuẩn Gram âm, nhiều hệ thống bơm ngược đã được miêu tả bao gồm *Campylobacter jejuni* (CmeABC), *Escherichia coli* (AcrAB-TolC, AcrEF-TolC, EmrB, EmrD), *Pseudomonas aeruginosa* (MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN và MexXY-OprM), *Salmonella typhimurium* (AcrAB) [14].

Bơm ngược ba thành phần ở các vi khuẩn Gram âm là phức hợp phân tử phức tạp, bơm này giúp vi khuẩn loại bỏ kháng sinh và các tác nhân độc hại khác ra khỏi tế bào. Hệ thống bơm ba thành phần có khả năng vận chuyển hàng loạt các kháng sinh có cấu trúc khác nhau cũng như các loại thuốc diệt khuẩn khác, góp phần làm tăng khả năng đa kháng thuốc của vi khuẩn Gram âm [15].

3. Chất ức chế bơm ngược ở vi khuẩn

Các EPI đã được biết trước đây có thể làm tăng tác dụng kháng sinh trên các vi khuẩn đa đề kháng. Ngoài ra, một số EPI có khả năng làm giảm đáng kể sự hình thành màng sinh học *in vitro* trên một số loài vi khuẩn gây bệnh. Những điều này khiến cho các EPI trở nên vô cùng hấp dẫn để nghiên cứu và phát triển, tuy nhiên hiện nay độc tính của EPI đang là một rào cản lớn cần vượt qua. Cấu trúc của một số EPI có hoạt tính được thể hiện trong Hình 2 [6].

Đối với vi khuẩn Gram dương, việc tìm kiếm các EPI mới được tiến hành trong thập kỷ qua chủ yếu tập trung vào NorA của *S. aureus* [9]. Hoạt tính các EPI thường được tìm thấy bằng các thử nghiệm kết hợp kháng sinh và EPI. Khả năng ức chế bơm ngược được xác định bằng các thử nghiệm đo quang ethidium bromid. [16]

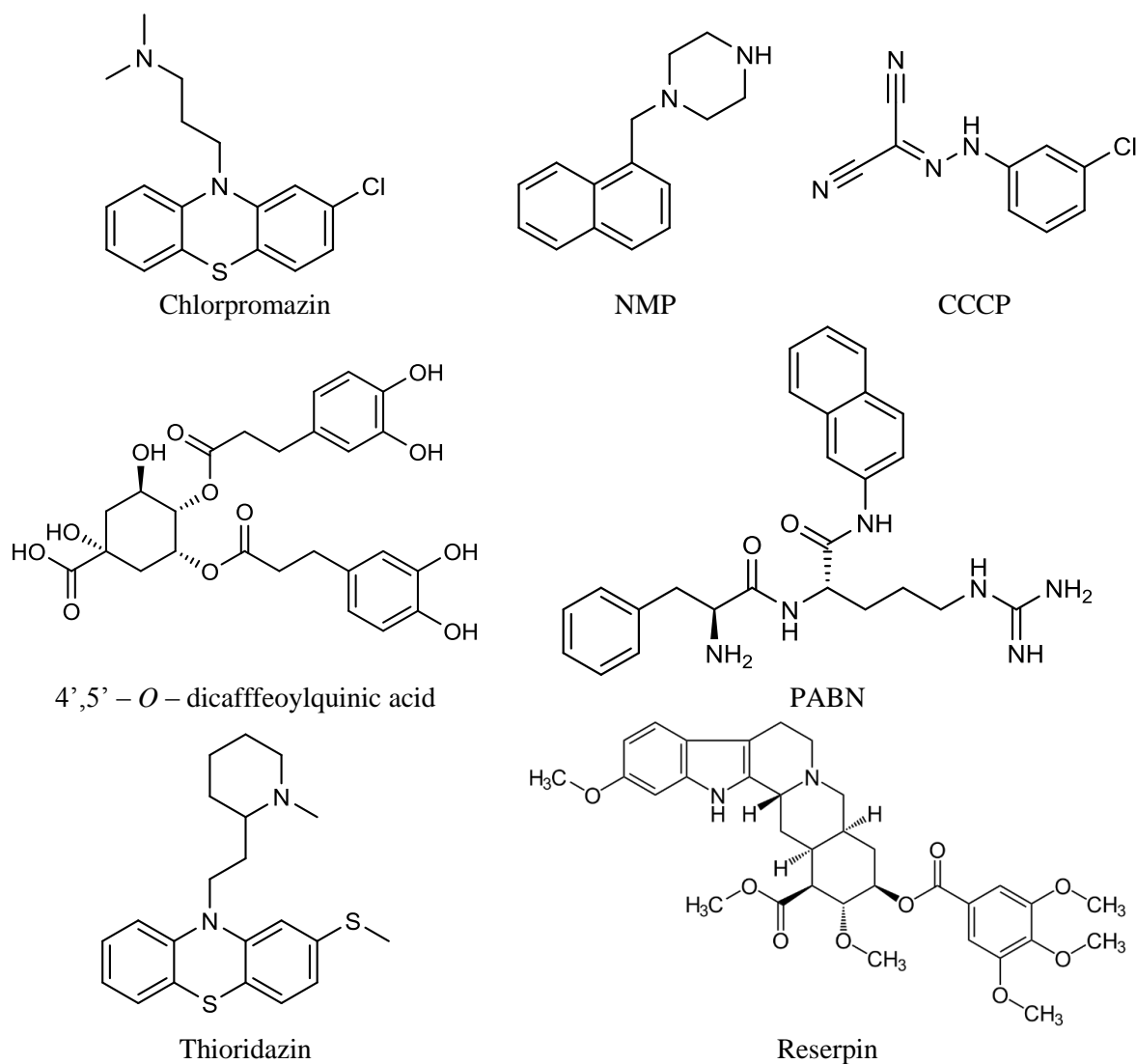
Một số EPI nhắm vào NorA đã được xác định bao gồm các thuốc hóa dược đang được sử dụng như reserpin [17], thuốc ức chế P-glycoprotein, verapamil [18], thuốc ức chế bơm proton, phenothiazin [19], thioxanthin, paroxetin và ức chế COX-2 [20].

Các chất tổng hợp mới như dẫn chất piperin [21], dẫn chất fluoroquinolon, chất ức chế khung indol [22], chất lai berberin-INF55 [23], chất thay thế dihydronaphthalen và mesolonic cũng cho thấy tác dụng đáng kể trong ức chế bơm NorA [20].

Các EPI có nguồn gốc tự nhiên cũng cho được tìm thấy như 4',5'-O-dicaffeoylquinic acid, N-trans-feruloyl 4'-O-methyldopamin, resin glycosid, capsaicin [7], pheophorbid A [24], diterpen [25], và các flavonoid [26].

Một EPI phải không độc hại và có tính chọn lọc cao để được lựa chọn làm chất tiềm năng cho sử dụng lâm sàng. Trong bối cảnh này, reserpin không thể tiến xa hơn do độc tính thần kinh ở nồng độ cần thiết để ức chế NorA. [27]

Đối với vi khuẩn Gram âm: Các nghiên cứu về chất ức chế bơm ngược ở vi khuẩn Gram âm thường phức tạp hơn do các tế bào màng kép có sự hiện diện của hệ thống bơm ba thành phần.



Hình 2. Cấu trúc của các EPI có hoạt tính ức chế bơm ngược ở vi khuẩn.

Một số chất tổng hợp hóa dược cho thấy tác dụng đáng kể trên bơm ngược ở vi khuẩn Gram âm như promethazin, paroxetin, NMP, arylpiperidin,... Promethazin - một phenothiazin, kết hợp với penicillin G đã được sử dụng để ức chế bơm RND trong *E. coli* cũng như ức chế bơm ABC trong nấm men [28]. Phenothiazin có thể đảo ngược các kiểu hình đa

kháng của các vi khuẩn gây bệnh như *P. aeruginosa* hoặc *S. typhimurium* [29]. Paroxetin có thể ức chế bơm AcrAB-TolC của *E. coli* [30]. Hơn nữa, NMP (1-naphthylmethylpiperazin) là chất ức chế hiệu quả nhất làm tăng nồng độ nội bào của các thuốc như chloramphenicol, tetracyclin, linezolid, macrolid và fluoroquinolon [31]. Cấu trúc với di-halogen

trong arylpiperidin đã được chứng minh là khôi phục hoạt tính kháng khuẩn của linezolid trên *E. coli* [13].

Nhiều EPI Gram âm có nguồn gốc từ thực vật cũng được tìm thấy như Bảng 1. [32]

Bảng 1. Các EPI có nguồn gốc từ thực vật

Dược liệu	Hoạt chất	Vi khuẩn mục tiêu	Bơm ngược mục tiêu
<i>Ammannia spp</i>	4-hydroxy- α -tetralon và dẫn xuất bán tổng hợp	<i>Escherichia coli</i>	Yo
<i>Anadenanthera colubrina</i>	ND	<i>Staphylococcus aureus</i>	ND
<i>Berberis aetnensis</i> <i>Berberis vulgaris</i>	Pheophorbid Berberin và Palmatin	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Multiple efflux pumps MexAB-OprM
<i>Callistemon citrinus</i> và <i>Vernonia adoensis</i>	Dịch chiết còn từ lá	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATP-dependent efflux pump
<i>Capsicum spp.</i>	Capsaicin	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Các diterpen (Ferruginol)	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Chamaecyparis nootkatensis</i>	phenolic diterpen totarol	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Dalea versicolor</i>	Flavanoid, các phenolic	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i>	NorA
<i>Holarrhena antidysenterica</i>	Conessin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexAB-OprM
<i>Hypericum olympicum</i>	Compound 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Lupinus argenteus</i>	Các Isoflavon	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Mesua ferrea</i>	Các coumarin	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Momordica balsamina</i>	Cucurbitan-nhóm triterpenoid	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	-
<i>Persea lingue</i>	Kaempferol rhamnosid	<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Các abietan diterpen	<i>Staphylococcus epidermis</i>	Msr(A), Tet(K)
<i>Salvia fruticosa</i>	Essential oils	<i>Staphylococcus aureus</i>	TetK
<i>Scutellaria baicalensis Georgi</i>	Baicalein	<i>Salmonella enteritidis</i>	NorA
<i>Terminalia chebula</i>	Gallotannin 1,2,6-tri-O-galloyl- β -D-glucopyranose	<i>Escherichia coli</i>	ND
<i>Various aromatic plants</i>	Thymol and carvacrol	<i>Food-borne pathogens</i>	ND
<i>Wrightia tinctoria</i>	Indirubin	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	NorA
<i>Zanthoxylum capense</i>	Phenylpropanoid (+)-ailanthoidiol (6)	<i>Staphylococcus aureus</i>	ND

Nhìn chung, các EPI mạnh có một số đặc điểm cấu trúc chung như sau: [7]

- Chứa ít nhất hai hệ thống vòng kỵ nước, trong đó ít nhất một hệ thống chứa nguyên tử Nitơ.

- Hệ thống vòng có thể là quinolin, quinolon, benzen, pyridin, pyranopyridin, pyrimidin, pyridopyrimidion hoặc indol.

- Các nhóm hút electron như halogen, CN và NO₂ được gắn vào các hệ thống vòng.

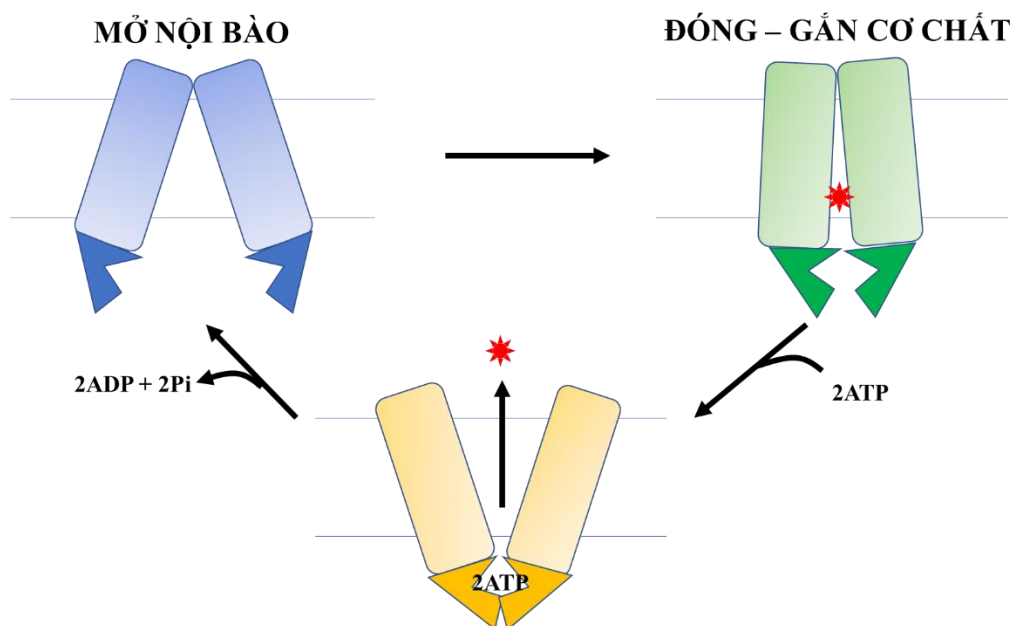
- Một nhóm methoxy gắn vào vòng benzen hoặc quinolin.

Bơm ngược ở tế bào nhân thật.

Ở các tế bào nhân thật, bơm ngược gồm: MCT (Monocarboxylate transporter), protein đa kháng P-glycoprotein (Multidrug resistance protein), MRP (Multidrug resistance-associated protein), PEPT (Peptide transporter) và NPT (Nạp phosphate transporter). Khả năng kháng hóa trị ung thư có liên quan đến hai loại bơm màng chủ yếu là P-glycoprotein (P-gp) và MRP, cả hai đều thuộc nhóm bơm sử dụng ATP (ATP binding cassette - ABC). Bơm ngược ABC được phân loại thành 7 họ dựa trên sự tương đồng về trình tự và cấu trúc, bao gồm: ABCA (ABC1), ABCB (MDR), ABCC (CFTR/MRP), ABCD (ALD), ABCE (OABP), ABCF (GCN20) và

ABCG. Trong số đó, ABCC là protein MRP đầu tiên được phát hiện [1].

P-gp được nghiên cứu nhiều nhất là họ ABCB1, những bơm họ này thường biểu hiện ở ruột, gan, thận, nhau thai và hàng rào máu não, gây ra đề kháng với các thuốc chống ung thư như doxorubicin, daunorubicin, volasertib, ceritinib, etoposide, paclitaxel, ... [1]. ABCB1 là bơm vận chuyển sử dụng ATP có vai trò quan trọng trong sinh lý và lâm sàng. Các miền liên kết nucleotid (nucleotide-binding domains - NBD) của ABCB1 sử dụng năng lượng của quá trình thủy phân ATP để tạo ra những thay đổi về hình dạng trong các miền xuyên màng (transmembrane domains - TMDs), từ đó gây ra việc vận chuyển đa dạng các chất hóa học qua màng tế bào [33]. Cơ chế hoạt động của bơm P-gp được thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Cơ chế hoạt động của bơm P-gp.

Trong khi đó, các bơm MRP thường biểu hiện trên các mô gan, thận, phổi và ruột nơi chúng có chức năng loại bỏ chất thải và giải độc các mô. Tương tự như P-gp, sự biểu hiện quá mức của MRP làm ảnh hưởng đến hiệu quả của các thuốc như doxorubicin, anthracycline-based drugs, oxaliplatin, cisplatin...[1]. Biểu hiện quá mức protein MRP1, MRP3, MRP4 ở các tế bào

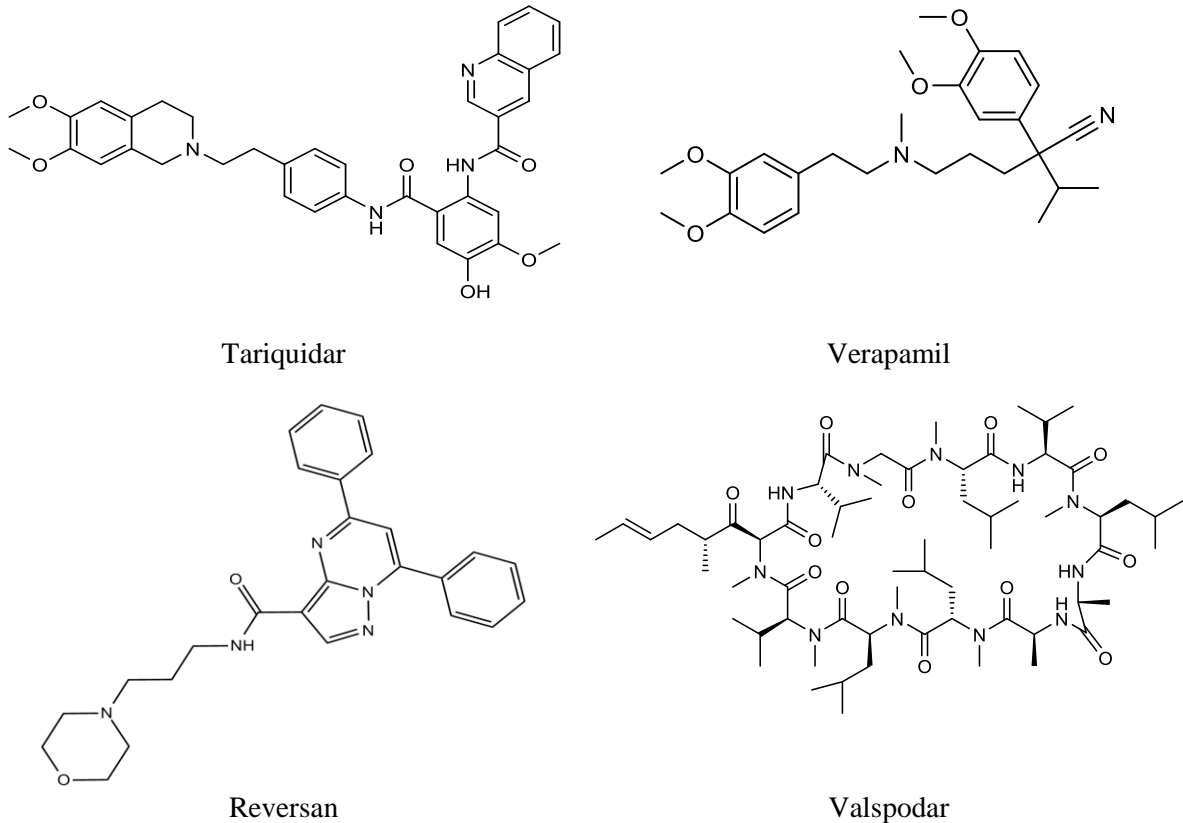
ung thư xương, ung thư buồng trứng hoặc ung thư vú gây giảm nồng độ thuốc chống ung thư trong tế bào, từ đó giảm tác dụng trị liệu của thuốc.

Chất ức chế bơm ngược ở tế bào nhân thật

Dựa trên chức năng và tác dụng phụ, các chất tổng hợp hóa dược có khả năng ức chế bơm ABC trong tế bào nhân thật đã được phát triển qua 3 thế hệ, trong đó các thế hệ thuốc đầu tiên bao

gồm Verapamil, Quinidin, Cyclosporine A... Do các thuốc thể hệ một thiếu tính đặc hiệu và độ tính cao, các nhà nghiên cứu đã tìm ra các chất ức chế thể hệ hai như Valspodar, Biricodar, ... tuy nhiên, các thuốc này cũng không hoạt động tốt trong điều trị phổi hợp. Do đó, các thuốc trên đã được thay thế bằng các loại thuốc thể hệ ba

như Tariquidar, Elacridar, Zosuquidar, CBT-1, ...[34]. Cấu trúc của các chất ức chế P-gp phổ biến nhất thuộc ba thể hệ khác nhau thể hiện trong Hình 4. Các chất ức chế theo một trong các cơ chế sau: (i) cản trở sự thủy phân ATP; (ii) ngăn sự biểu hiện P-gp; (iii) ức chế hoặc cạnh tranh vị trí gắn kết, như trong Bảng 2 [34].



Hình 4. Cấu trúc các chất ức chế P-gp.

Bảng 2. Cơ chế của các chất ức chế P-gp

Tác dụng trên ATPase	Biểu hiện P-gp		Cạnh tranh vị trí gắn kết		
Ức chế	Cảm ứng	Giảm	Tăng		
Valspodar Tariquidar Elacridar ONT-093	Verapamil	Verapamil Cyclosporin A Reserpin Toremifen Trifluoperazin Dexverapamil Valspodar	Vincristin	Verapamil	
	Cyclosporin A			Cyclosporin A	Cyclosporin A
	Vincristin			Reserpin	Reserpin
	Quinidin			Toremifen	Quinidin
	Tamoxifen			Trifluoperazin	Valspodar
	Toremifen			Dexverapamil	Dexniguldipin
	Trifluoperazin			Valspodar	Biricodar
	Dexverapamil				Elacridar
	Biricodar				Dofequidar
					Tariquidar
		Zosuquidar			

Đối với các dòng tế bào biểu hiện quá mức bơm ABC, rất khó để duy trì nồng độ nội bào của các loại thuốc khác nhau, vì vậy liệu pháp phối hợp các thảo dược với các thuốc điều trị ung thư đã ra đời. Trong đó, có thể kể đến Icaritin là một loại thảo mộc truyền thống của Trung Quốc, khi sử dụng kết hợp đã tăng cường độc tính tế bào của doxorubicin và gây ra apoptosis trong các tế bào xương. Cơ chế liên quan đến sự ức chế hoạt động PI3K dẫn đến giảm phosphoryl hóa Akt. Tương tự, Miltiron – một diterpenquinon được phân lập từ *Salvia miltiorrhiza* là chất ức chế cạnh tranh của P-gp trong dòng tế bào HepG2 kháng doxorubicin. Miltiron gây ra apoptosis bằng cách kích hoạt caspase sinh ra các gốc oxy hóa và làm tăng ROS trung gian dẫn đến hoạt hóa con đường protein kinase. Các nghiên cứu cho thấy rằng các loại thảo mộc có tiềm năng lớn để hạn chế tình trạng đa kháng thuốc ở các tế bào ung thư và có thể dùng để thay thế hóa trị. Trong số 16 chiết xuất được sàng lọc, chiết xuất *Fallopia japonica* khá hiệu quả đối với CYP3A4, P-gp [1].

Ngoài ra, một số hợp chất tự nhiên được chiết xuất từ thực vật cũng cho thấy tác dụng trên P-gp như các alkaloid, coumarin, flavonoid và terpenoid. [35]. Một số chất ức chế bơm P-gp như Siphonolol A, Lamellarin, Agostrol A, Nocardiozin, ... cũng được phân lập từ các sinh

vật biển như Tunicat, Sponge, Cyanobacteria và Alga, Bryozoan, Coral, vi khuẩn biển [34].

Các nghiên cứu cho thấy rằng các EPI có tiềm năng sử dụng lâm sàng nên có một số tính chất: [35]

- Giá trị logP cao (được xác định bằng hệ số phân chia dầu-nước). Thông số này ít nhất là 2,92 để đảm bảo hình thành liên kết kỵ nước hoặc tương tác Van der Waals với vị trí gắn kết P-gp.

- Trọng lượng phân tử đáng kể là rất cần thiết và phân tử phải có số lượng nguyên tử từ 18 trở lên để bao phủ nhiều vùng liên kết P-gp

- Năng lượng orbital phân tử (HOMO) phải có mức độ cao để đảm bảo tương tác nucleophilin của phân tử với P-gp

- Ít nhất một nguyên tử Nitơ bậc 3 để đảm bảo tạo ra liên kết ion với P-gp.

- Các nhóm chức bao gồm aren, alkyl, carbonyl, ether và nitơ là những thành phần chủ yếu tạo ra sự tương tác mạnh mẽ giữa protein và EPI.

Các EPI trên cả vi khuẩn và tế bào nhân thật

Như đã trình bày, các chất EPI thường là các phân tử tổng hợp nhỏ hoặc các chất chuyển hóa thực vật cho thấy nhiều hứa hẹn trong việc ức chế kháng thuốc ở cả vi khuẩn và tế bào nhân thật. Một số chất quan trọng được nghiên cứu có khả năng ức chế bơm ngược của vi khuẩn và P-gp được liệt kê trong Bảng 3 [1].

Bảng 3. Những chất ức chế bơm tác dụng vào cả bơm ngược vi khuẩn và tế bào nhân thật

Các EPI	Bơm ngược ở vi khuẩn	Bơm ngược ở tế bào nhân thật
Verapamil	MATE (DinF, NorM)	ABC(Rv1258c), P-gp/ABCB1, BCC4/MRP4, ABCB4, ABCC1
Các Phenothiazin	MFS (NorA)	P-gp
Các Thioridazin	MFS(NorA)	P-gp
Các Hydantoin	RND (AcrB)	P-gp
Các Chalcon	MFS (NorA)	P-gp, BCRP/ABCG2
Piperin	MFS (NorA)	P-gp, MRP1, BCRP
Reserpin	ABC (PatA, PatB)	BCRP
Các Flavonoid	MFS (NorA)	P-gp, BCRP
Các Quercetin	MFS (NorA), RND (AcrB)	P-gp, BCRP

Kết luận

Tổng quan này góp phần cho việc tìm kiếm các tác nhân kháng khuẩn/kháng ung thư mới, giúp cung cấp một cái nhìn tổng thể về hiện trạng và một số định hướng tương lai cho việc thiết kế EPI. Mặc dù công dụng chữa bệnh của EPI vẫn cần xác nhận lâm sàng nhưng phương pháp này hứa hẹn mang lại nhiều triển vọng cho cuộc đấu tranh với đa đề kháng hiện nay.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.05-2017.12.

Tài liệu tham khảo

- [1] R.C. Lawrence, S.G. Subramaniapillai, V. Ulaganathan, S. Nagarajan, Tackling drug resistance with efflux pump inhibitors: from bacteria to cancerous cells, *Crit. Rev. Microbiol* 45 (2019), 334-353. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2019.1607248>.
- [2] O. Lomovskaya, K.A. Bostian, Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinic—a vision for applied use, *Biochem. Pharmacol* 71 (2006), 910-918. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.12.008>.
- [3] G.D. Wright, Resisting resistance: new chemical strategies for battling superbugs, *Chem. Biol* 7 (2000), R127-R132. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(00\)00126-5](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(00)00126-5).
- [4] M. Kvist, V. Hancock, P. Klemm, Inactivation of efflux pumps abolishes bacterial biofilm formation, *Appl. Environ. Microbiol* 74 (2008), 7376-7382. <https://doi.org/10.1128/AEM.01310-08>.
- [5] F.R. Stermitz, P. Lorenz, J.N. Tawara, L.A. Zenewicz, K. Lewis, Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydrnocarpin, a multidrug pump inhibitor, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (2000), 1433-1437. <https://doi.org/10.1073/pnas.030540597>.
- [6] I. Alav, J.M. Sutton, K.M. Rahman, Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation, *J. Antimicrob. Chemother* 73 (2018), 2003-2020. <https://doi.org/10.1093/jac/dky042>.
- [7] A. Lamut, L. Peterlin Mašič, D. Kikelj, T. Tomašič, Efflux pump inhibitors of clinically relevant multidrug resistant bacteria, *Med. Res. Rev* (2019). <https://doi.org/10.1002/med.21591>.
- [8] K.A. Hassan, Q. Liu, P.J. Henderson, I.T. Paulsen, Homologs of the *Acinetobacter baumannii* Acel transporter represent a new family of bacterial multidrug efflux systems, *MBio* 6 (2015), e01982-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.01982-14>.
- [9] J.A. Delmar, C.-C. Su, E.W. Yu, Bacterial multidrug efflux transporters, *Annual review of biophysics* 43 (2014), 93-117. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-051013-022855>.
- [10] S. Kumar, M.M. Mukherjee, M.F. Varela, Modulation of bacterial multidrug resistance efflux pumps of the major facilitator superfamily, *International journal of bacteriology* 2013 (2013). <https://dx.doi.org/10.1155/2013/204141>.
- [11] D.C. Bay, K.L. Rommens, R.J. Turner, Small multidrug resistance proteins: a multidrug transporter family that continues to grow, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1778 (2008), 1814-1838. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.08.015>.
- [12] J. Lubelski, W.N. Konings, A.J. Driessen, Distribution and physiology of ABC-type transporters contributing to multidrug resistance in bacteria, *Microbiol. Mol. Biol. Rev* 71 (2007), 463-476. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00001-07>.
- [13] K.-M. Thai, T.-N. Do, T.-D. Tran, QSAR studies on bacterial efflux pump inhibitors, in *Quantitative Structure-Activity Relationships in Drug Design, Predictive Toxicology, and Risk Assessment*, IGI Global, 2015, pp. 238-268. <https://doi.org/10.4018/978-1-4666-8136-1.ch007>.
- [14] K. Wang, H. Pei, B. Huang, X. Zhu, J. Zhang, B. Zhou, L. Zhu, Y. Zhang, F.-F. Zhou, The expression of ABC efflux pump, Rv1217c-Rv1218c, and its association with multidrug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in China, *Curr. Microbiol* 66 (2013), 222-226. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0215-3>.
- [15] A. Neuberger, D. Du, B.F. Luisi, Structure and mechanism of bacterial tripartite efflux pumps, *Res. Microbiol* 169 (2018), 401-413. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.05.003>.
- [16] S. Gibbons, M. Oluwatuyi, G.W. Kaatz, A novel inhibitor of multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*, *J. Antimicrob. Chemother* 51 (2003), 13-17. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg044>.
- [17] A.A. Neyfakh, C.M. Borsch, G.W. Kaatz, Fluoroquinolone resistance protein NorA of *Staphylococcus aureus* is a multidrug efflux transporter, *Antimicrob. Agents Chemother* 37 (1993), 128-129. <https://doi.org/10.1128/AAC.37.1.128>.

- [18] J.R. Aeschlimann, L.D. Dresser, G.W. Kaatz, M.J. Rybak, Effects of NorA Inhibitors on In Vitro Antibacterial Activities and Postantibiotic Effects of Levofloxacin, Ciprofloxacin, and Norfloxacin in Genetically Related Strains of *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents Chemother* 43 (1999), 335-340. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.2.335>.
- [19] G.W. Kaatz, V.V. Moudgal, S.M. Seo, J.E. Kristiansen, Phenothiazines and thioxanthenes inhibit multidrug efflux pump activity in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents Chemother* 47 (2003), 719-726. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.2.719-726.2003>.
- [20] J. Handzlik, A. Matys, K. Kieć-Kononowicz, Recent advances in multi-drug resistance (MDR) efflux pump inhibitors of Gram-positive bacteria *S. aureus*, *Antibiotics* 2 (2013), 28-45. <https://doi.org/10.3390/antibiotics2010028>.
- [21] I.A. Khan, Z.M. Mirza, A. Kumar, V. Verma, G.N. Qazi, Piperine, a phytochemical potentiator of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents Chemother* 50 (2006), 810-812. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.2.810-812.2006>.
- [22] J.I. Ambrus, M.J. Kelso, J.B. Bremner, A.R. Ball, G. Casadei, K. Lewis, Structure-activity relationships of 2-aryl-1H-indole inhibitors of the NorA efflux pump in *Staphylococcus aureus*, *Bioorg. Med. Chem. Lett* 18 (2008), 4294-4297. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.06.093>.
- [23] D. Tomkiewicz, G. Casadei, J. Larkins-Ford, T.I. Moy, J. Garner, J.B. Bremner, F.M. Ausubel, K. Lewis, M.J. Kelso, Berberine-INF55 (5-nitro-2-phenylindole) hybrid antimicrobials: effects of varying the relative orientation of the berberine and INF55 components, *Antimicrob. Agents Chemother* 54 (2010), 3219-3224. <https://doi.org/10.1128/AAC.01715-09>
- [24] R. Pereda-Miranda, G.W. Kaatz, S. Gibbons, Polyacylated oligosaccharides from medicinal Mexican morning glory species as antibacterials and inhibitors of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*, *J. Nat. Prod* 69 (2006), 406-409. <https://doi.org/10.1021/np050227d>.
- [25] E.C. Smith, G.W. Kaatz, S.M. Seo, N. Wareham, E.M. Williamson, S. Gibbons, The phenolic diterpene totarol inhibits multidrug efflux pump activity in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents Chemother* 51 (2007), 4480-4483. <https://doi.org/10.1128/AAC.00216-07>
- [26] H.T. Diniz-Silva, M. Magnani, S. de Siqueira, E.L. de Souza, J.P. de Siqueira-Júnior, Fruit flavonoids as modulators of norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* that overexpresses norA, *LWT-Food Science and Technology* 85 (2017), 324-326. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.003>
- [27] H. Pfeifer, D. Greenblatt, J. Koch-Wester, Clinical toxicity of reserpine in hospitalized patients: a report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program, *The American journal of the medical sciences* 271 (1976), 269-276. <https://doi.org/10.1097/00000441-197605000-00002>
- [28] J. Lehtinen, E.-M. Lilius, Promethazine renders *Escherichia coli* susceptible to penicillin G: real-time measurement of bacterial susceptibility by fluoro-luminometry, *Int. J. Antimicrob. Agents* 30 (2007), 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.02.019>.
- [29] E.J. Toone, Efflux pumps of gram-negative bacteria: genetic responses to stress and the modulation of their activity by pH, inhibitors, and phenothiazines, L. Amaral, J-M Páges, *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, Volume 77, John Wiley & Sons Inc., Canada, 2011, p. 61-108.
- [30] J.A. Bohnert, M. Szymaniak-Vits, S. Schuster, W.V. Kern, Efflux inhibition by selective serotonin reuptake inhibitors in *Escherichia coli*, *J. Antimicrob. Chemother* 66 (2011), 2057-2060. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr258>.
- [31] A.V. Vargiu, H. Nikaido, Multidrug binding properties of the AcrB efflux pump characterized by molecular dynamics simulations, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (2012), 20637-20642. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218348109>
- [32] M. Rao, S. Padyana, K. Dipin, S. Kumar, B. Nayak, M. Varela, Antimicrobial compounds of plant origin as efflux pump inhibitors: new avenues for controlling multidrug resistant pathogens, *J. Antimicrob. Agents* 4 (2018), 2472-1212.1000159. <https://doi.org/10.4172/2472-1212.1000159>.
- [33] A. Alam, J. Kowal, E. Broude, I. Roninson, K.P. Locher, Structural insight into substrate and inhibitor discrimination by human P-glycoprotein, *Science* 363 (2019), 753-756. <https://doi.org/10.1126/science.aav7102>.
- [34] D. Lopez, S. Martinez-Luis, Marine natural products with P-glycoprotein inhibitor properties, *Mar. Drugs* 12 (2014), 525-546. <https://doi.org/10.3390/md12010525>.
- [35] S. Mollazadeh, A. Sahebkar, F. Hadizadeh, J. Behravan, S. Arabzadeh, Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors, *Life Sci.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.10.048>.