

ĐÁNH GIÁ TƯƠNG TÁC CỦA PHÂN TỬ CARVACROL VỚI MÀNG LIPOSOME VÀ MÀNG VI KHUẨN BẰNG PHƯƠNG PHÁP MÔ PHỎNG ĐỘNG LỰC HỌC

• BUI THỊ THU HÀ^{1*} - NGUYỄN HOÀNG PHƯƠNG²

¹Khoa Kỹ thuật Hóa học - Đại học Bách khoa Thành phố Hồ Chí Minh

²Laboratory of Theoretical Biochemistry - Institut de Biologie Physico-Chimique (IBPC)

* Tác giả liên hệ - Email: habuibio@gmail.com

TÓM TẮT:

Nghiên cứu sử dụng mô phỏng động lực học phân tử để khảo sát tương tác giữa carvacrol với 3 nhóm màng mô hình: màng liposome nguồn gốc đậu nành, một màng liposome nhân tạo dùng để đối chiếu thành phần và màng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Ligand carvacrol được chuẩn bị từ cơ sở dữ liệu PubChem, sau đó các hệ màng được xây dựng bằng CHARMM-GUI và mô phỏng bằng GROMACS 2016 với trường lực CHARMM36, nước TIP3P và môi trường NPT ở 303.15 K, 1 bar trong 200 ns. Kết quả cho thấy, carvacrol đi vào màng tương đối sớm, thường trước 25 ns, và duy trì trạng thái ổn định trong màng đến cuối mô phỏng. Ở các hệ dimer và pentamer, một số phân tử còn có xu hướng xuyên sang leaflet đối diện. Phân tích order parameter cho thấy tất cả các màng vẫn ở trạng thái linh động sau tương tác; đặc biệt, hệ DOPC/DPPC có S_{CD} thấp hơn liposome nguồn gốc đậu nành, gợi ý khả năng giải phóng carvacrol thuận lợi hơn. Các kết quả này ủng hộ việc tiếp tục tối ưu hóa liposome thành phần đơn giản hơn như một hệ mang carvacrol cho ứng dụng kháng khuẩn.

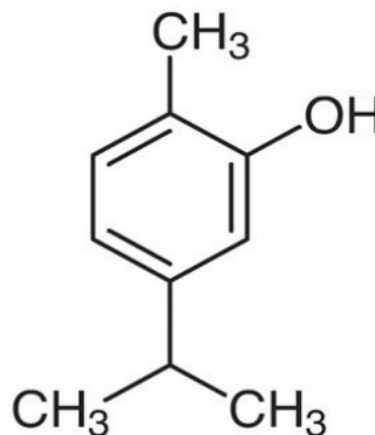
Từ khóa: carvacrol, mô phỏng động lực học phân tử, màng liposome, *Staphylococcus aureus*.

1. Đặt vấn đề

Carvacrol (2-methyl-5-(1-methylethyl)-phenol), còn được gọi là p-cymen-2-ol, 2-hydroxy-p-cymene, 5-isopropyl-2-methylphenol hay iso-thymol, là một hợp chất phenol monoterpenic có công thức phân tử $C_{10}H_{14}O$, được sinh tổng hợp từ γ -terpinene thông qua p-cymene. Về cấu trúc hóa học, carvacrol gồm một vòng phenolic mang nhóm hydroxyl cùng các nhóm thế methyl (Lisa Marinelli, 2018).

Hiện nay, carvacrol đã được Hoa Kỳ và châu Âu phê duyệt là phụ gia thực phẩm an toàn, thường được sử dụng làm chất tạo hương trong đồ uống, bánh kẹo và kẹo cao su. Ngoài vai trò trong thực phẩm, carvacrol còn được sử dụng từ lâu trong y học dân gian nhờ nhiều hoạt tính sinh học quan trọng như kháng khuẩn, kháng viêm, kháng nấm, chống oxy hóa và kháng ung thư (Ultee A., 1999).

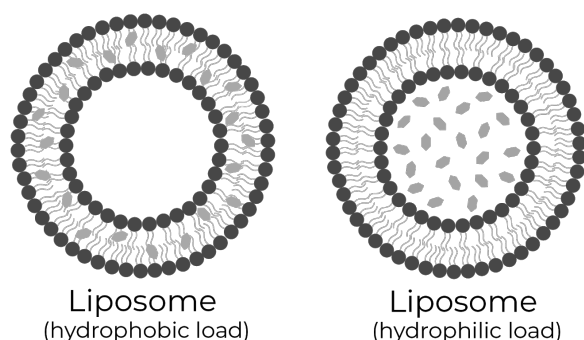
Hình 1: Carvacrol (Lisa Marinelli, 2018)



Cơ chế kháng khuẩn của carvacrol chủ yếu liên quan đến khả năng tương tác với lớp màng lipid của tế bào vi khuẩn. Nhờ bản chất monoterpene phenol và nhóm hydroxyl kỵ nước, carvacrol có thể chèn vào lớp màng phospholipid, làm thay đổi sự sắp xếp của các chuỗi acid béo, gây giãn nở màng và làm mất tính ổn định cấu trúc. Điều này làm tăng tính thấm của màng đối với proton và ion, phá vỡ cân bằng ion gradient và dẫn đến chết tế bào (G. Arumugam, 2016). Tuy nhiên, độ hòa tan thấp, quá trình oxy hóa và mất mát do bay hơi là những hạn chế chính trong quá trình tạo ra sản phẩm. Song song với đó, liposome từ lâu đã được xem là hệ mang phù hợp cho các phân tử kỵ nước nhằm cải thiện độ ổn định và phân tán trong nước.

Liposome, lần đầu tiên được Bangham và Horne phát triển vào năm 1964 (Horne, 1964), là những túi cầu nhỏ chứa pha nước bên trong và được bao bọc bởi một hoặc nhiều lớp màng phospholipid kép. Kích thước của liposome thường dao động từ vài chục đến vài nghìn nanomet. Nhờ cấu trúc đặc biệt này, liposome được sử dụng rộng rãi như một hệ mang giúp bao gói, bảo vệ và vận chuyển các hoạt chất sinh học, đồng thời cải thiện độ ổn định, khả dụng sinh học và khả năng đưa hoạt chất đến đúng tế bào mục tiêu.

Hình 2: Thành phần cấu tạo của Liposome (Natalia Sannikova, 2021)



Thành phần cấu tạo của liposome chủ yếu gồm lớp vỏ bao bọc bên ngoài và các chất cần vận chuyển được chứa đựng bên trong. Lớp vỏ liposome chủ yếu được hình thành từ phospholipid. Phospholipid là thành phần cơ bản của màng tế bào sinh học, có tính lưỡng cực với một đầu ưa nước chứa nhóm phosphate và hai đuôi kỵ nước là các chuỗi acid béo, được liên kết với nhau bởi phân tử glycerol. Chính tính chất này giúp phospholipid tự sắp xếp

thành lớp màng kép trong môi trường nước (Abdus Samad, 2007).

Liposome có thể được phân loại dựa trên số lớp màng phospholipid, kích thước hạt và cơ chế hướng đích. Những đặc điểm này quyết định tính chất chức năng cũng như khả năng ứng dụng của liposome trong dược phẩm, thực phẩm và y sinh học (Anil Kumar Sahdev, 2017).

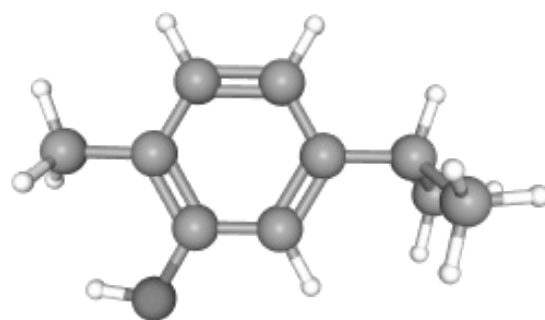
Trên phương diện mô phỏng, các hệ màng sinh học thực tế hiện thường được dựng bằng CHARMM-GUI và vận hành bằng force field CHARMM36 trên GROMACS; các mô hình chuyên biệt cho màng đậu nành giàu linoleoyl và cho bilayer phức hợp của *Staphylococcus aureus* (S. Aureus) cũng đã được công bố. Ngoài ra, thực nghiệm trên liposome chứa carvacrol cho thấy, chính tương tác carvacrol-lipid có thể làm thay đổi cấu trúc của màng.

Câu hỏi đặt ra là carvacrol có đi vào và ổn định trong các màng mô hình hay không; mức độ kết tụ của carvacrol có làm thay đổi hành vi xuyên màng hay không; và thành phần màng có ảnh hưởng đến độ linh động màng theo order parameter hay không. Nghiên cứu này đưa ra hệ mô phỏng Carvacrol và màng liposome từ đậu nành, màng liposome mô phỏng lý tưởng và màng vi khuẩn *S. Aureus* để giải đáp cho những vấn đề trên.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Carvacrol ($C_{10}H_{12}OH$) (Hình 3) được lựa chọn làm phối tử nghiên cứu và thu nhận từ cơ sở dữ liệu NCBI PubChem với mã CID 10364 (Javad Saffari Chaleshtori, 2016). Cấu trúc ban đầu của phối tử được tải xuống dưới định dạng SDF, sau đó được chuyển đổi sang định dạng PDB bằng phần mềm trực tuyến OPENBABEL nhằm phục vụ cho các bước mô phỏng tiếp theo. Sau quá trình chuyển đổi, cấu trúc phân tử của Carvacrol được kiểm tra và xác nhận lại bằng phần mềm Visual Molecular Dynamics (VMD) để đảm bảo tính chính xác của dữ liệu đầu vào.

Hình 3: Cấu trúc phân tử của Carvacrol (NCBI)



Tiếp theo, file PDB của Carvacrol được xử lý bằng công cụ CHARMM-GUI Ligand Reader & Modeler nhằm xây dựng cấu trúc không gian 3 chiều hoàn chỉnh ở định dạng Mol2, đồng thời xác định tên phân tử phù hợp cho hệ thống mô phỏng động lực học phân tử ở các bước tiếp theo.

Do nghiên cứu thực nghiệm sử dụng hệ liposome có nguồn gốc từ phospholipid đậu nành, 3 mô hình màng lipid đã được thiết kế tương ứng nhằm mô phỏng chính xác điều kiện thực nghiệm. Thành phần lipid của từng hệ màng được trình bày chi tiết trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần lipid trong từng loại màng

Membrane	Lipid	ratio	number
Liposome (Jalil Parchekani, 2022)	DOPC	66,66%	67
	DPPC	33,33%	33
	total	99,99%	100
Lipid of soybean membrane (Abdus Samad, 2007)	PLPC	11.50%	12
	DLiPC	22.10%	22
	PLPE	13.30%	13
	DLiPE	7.30%	7
	PLPI	8.50%	9
	DLiPI	3.60%	4
	LLPE	5.1%	5
	Sitosterol	21%	21
	stigmaterol	7.5%	8
	total	100%	100
Bacteria membrane (Pengfei She, 2020)	DOPC	70%	70
	DOPG	30%	30
	total	100%	100

Các mô hình màng đã được thiết lập bằng công cụ Membrane Builder của CHARMM-GUI. Hệ màng lipid kép được xây dựng với mỗi lớp gồm 100 phân tử lipid và được mô phỏng ở nhiệt độ 303,15 K. Trước khi tiến hành mô phỏng chính thức, các hệ màng được cân bằng bằng quy trình 6 bước tiêu chuẩn nhằm đảm bảo trạng thái ổn định ban đầu.

Ngoài ra, một mô hình màng nhân tạo chỉ gồm 1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-Phosphocholine (DOPC) và 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamine (DPPC) cũng được xây dựng để đánh giá ảnh hưởng của thành phần màng đến khả năng tương tác với carvacrol.

Mô phỏng được chạy bằng GROMACS 2016 với trường lực lipid CHARMM36, mô hình nước TIP3P và ion K⁺ để trung hòa điện tích. Năng lượng tối thiểu được thực hiện trong 5000 bước; giai đoạn cân bằng và giai đoạn mô phỏng đều sử dụng tập hợp NPT (Number of particles, Pressure, Temperature), trong đó số lượng phân tử, áp suất và nhiệt độ được giữ không đổi ở 1 bar và 303.15 K. Bộ điều nhiệt v-rescale được dùng để khống chế nhiệt độ, thuật toán Berendsen được dùng cho áp suất và tương tác tĩnh điện tầm xa được xử lý bằng phương pháp particle-mesh Ewald (PME). Mỗi hệ được mô phỏng 200 ns.

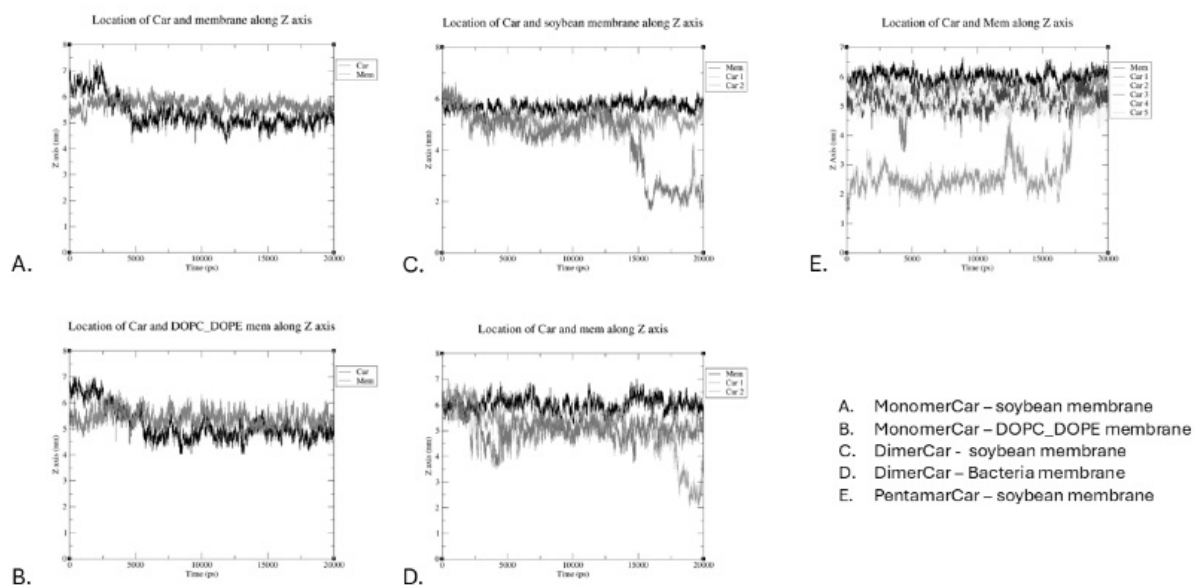
3. Kết quả và thảo luận

Phân tích vị trí theo trục z cho thấy, carvacrol thay đổi vị trí động theo thời gian và có xu hướng di chuyển từ phía ngoài vào trong màng ở mọi hệ được khảo sát. Theo hình ảnh phân tích biểu đồ kết quả, quá trình đi vào màng thường xảy ra trước khoảng 25 ns. Ở hệ pentamer trên màng nguồn gốc đậu nành, phân tử carvacrol thứ 5 ban đầu nằm ở vị trí thấp hơn, gợi ý xuất phát điểm ngay gần hoặc trong leaflet dưới. Kết quả này cho thấy, carvacrol không chỉ tương tác bề mặt mà thực sự tích hợp vào môi trường màng (Hình 4).

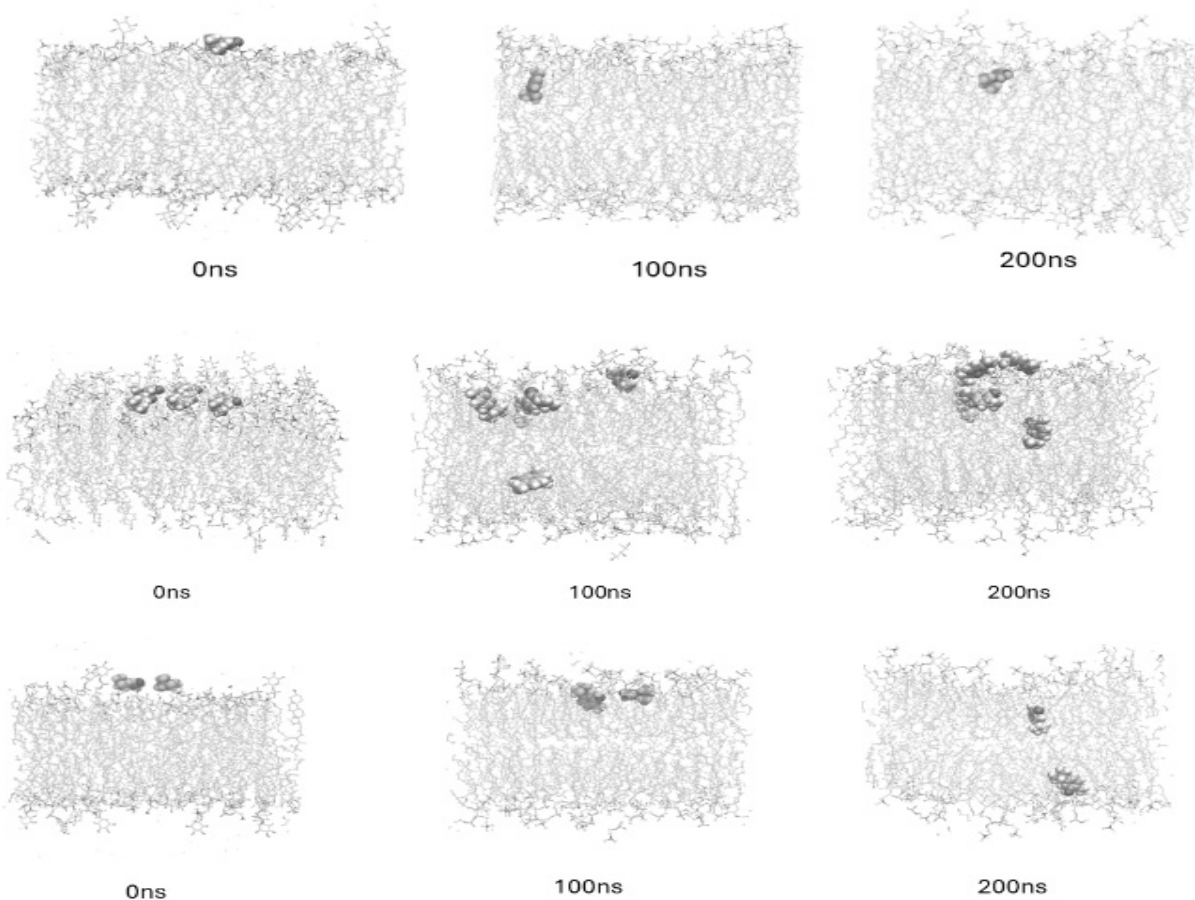
Phân tích phân bố không gian và ảnh chụp quỹ đạo tại 0, 100 và 200 ns củng cố nhận định trên. Ở thời điểm đầu, các phân tử carvacrol nằm phía trên bề mặt màng với khoảng cách xấp xỉ 2.5 Å. Đến 100 ns, phần lớn phân tử đã hiện diện trong vùng màng; ở các hệ dimer và pentamer, một số phân tử cho thấy xu hướng xuyên qua màng và xuất hiện ở leaflet đối diện. Đến 200 ns, đa số phân tử vẫn nằm ổn định trong màng. Đây là bằng chứng trực quan mạnh mẽ cho khả năng xâm nhập và bám giữ của carvacrol trong môi trường lipid (Hình 5).

Thông số trật tự định hướng liên kết (S_{CH}) là chỉ số quan trọng dùng để đánh giá mức độ sắp xếp và độ linh động của màng lipid trong mô phỏng động lực học phân tử (MD). Chỉ số này phản ánh định hướng của các liên kết C-H trong chuỗi lipid so với vectơ pháp tuyến của màng (D Peter Tieleman, 1997).

Hình 4: Vị trí của Carvacrol và màng theo trục z



Hình 5: Vị trí các hệ carvacrol và màng



Thông số được tính theo công thức:

$$S_{CH} = \frac{3}{2} (\cos^2 \beta) - \frac{1}{2}$$

trong đó, β là góc giữa liên kết C–H và vector pháp tuyến của lớp màng.

Vector pháp tuyến của mỗi leaflet được xác định từ tâm khối đến nguyên tử phospho của từng phân tử lipid, sau đó lấy trung bình cho toàn bộ leaflet. Với nhóm CH_2 hoặc CH_3 , giá trị được tính trung bình trên tất cả các liên kết C–H; còn với carbon không bão hòa hoặc nhánh methyl đặc biệt, chỉ một liên kết C–H đại diện được sử dụng (Faramarz Joodaki, 2022).

Giá trị càng cao cho thấy màng càng có trật tự và cứng hơn, trong khi giá trị thấp phản ánh màng linh động và lỏng hơn.

Phân tích order parameter cho thấy S_{cd} của các đuôi alkyl đều nhỏ hơn 1, cho thấy màng còn ở trạng thái linh động sau tương tác với carvacrol. So sánh rõ nhất được nêu cho hệ monomer: các lipid trong liposome nguồn gốc đậu nành có S_{cd} cao hơn đáng kể so với màng DOPC/DPPC, từ đó suy ra màng DOPC/DPPC có độ linh động lớn hơn. Theo logic giải phóng hoạt chất, một màng linh động hơn sẽ ít “giữ chặt” carvacrol hơn và do đó hứa hẹn hiệu quả phóng thích tốt hơn (Hình 6).

4. Kết luận

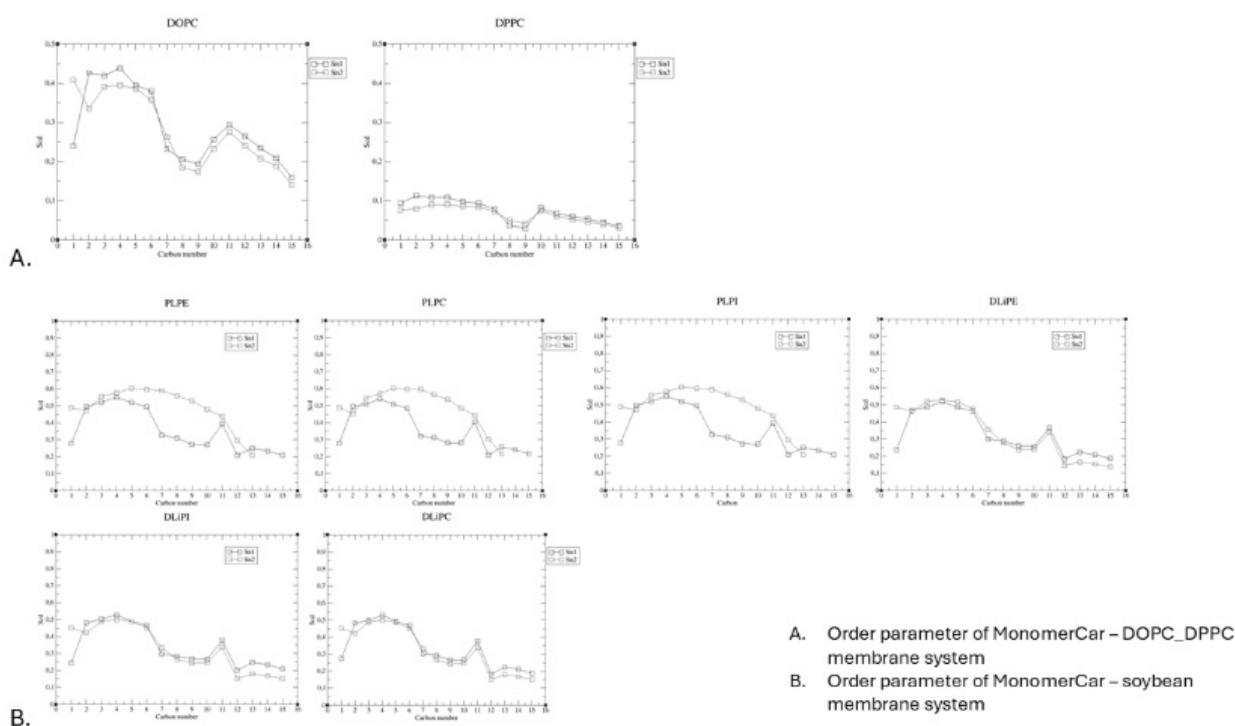
Từ các kết quả phân tích mô phỏng cho thấy, phân tử Carvacrol có độ ổn định cao trong suốt quá trình nghiên cứu, dù tồn tại ở dạng monomer, dimer hay pentamer. Không ghi nhận sự phá vỡ cấu trúc hay biến đổi bất thường nào, chứng tỏ Carvacrol có tính bền vững tốt trong điều kiện mô phỏng.

Kết quả nổi bật nhất là khả năng tương tác mạnh giữa Carvacrol với màng liposome và màng tế bào vi khuẩn. Phân tích vị trí, phân bố và hình ảnh mô phỏng cho thấy, Carvacrol không chỉ bám trên bề mặt mà còn có khả năng thâm nhập sâu vào bên trong màng và vẫn duy trì trạng thái ổn định sau khi chèn vào màng. Điều này giúp làm sáng tỏ cơ chế kháng khuẩn của Carvacrol cũng như tiềm năng ứng dụng trong hệ dẫn thuốc.

Đặc biệt, ở hệ Carvacrol dimer - màng đậu nành, một số phân tử Carvacrol có xu hướng xuyên sâu vào màng, mở ra hướng nghiên cứu mới về hiệu quả vi bao hóa Carvacrol và góp phần giải thích sự khác biệt thực nghiệm giữa Carvacrol tự do và Carvacrol được bao gói trong liposome.

Nghiên cứu cũng xây dựng được hệ liposome có thành phần màng phù hợp nhằm cải thiện hiệu quả mang thuốc và khả năng kiểm soát giải phóng

Hình 6: Order Parameter của hệ Mono Carvacrol với các hệ màng



Carvacrol. Đồng thời, mô phỏng màng vi khuẩn *S. Aureus* cho thấy Carvacrol có thể xâm nhập thành công vào màng tế bào vi khuẩn.

Phân tích thông số trật tự đuôi lipid (Scd) cho thấy, tất cả giá trị đều nhỏ hơn 1, chứng tỏ màng lipid có độ linh động cao. Sau khi Carvacrol thâm nhập, cấu trúc màng hầu như không thay đổi đáng kể và vẫn duy trì tính linh động này. Đặc biệt, màng liposome được cấu tạo từ DOPC và DPPC được đánh

giá là phù hợp hơn so với màng liposome nguồn gốc đậu nành nhờ giá trị Scd thấp hơn, giúp tăng tính linh động của màng và hỗ trợ giải phóng Carvacrol hiệu quả hơn.

Ngoài ra, quá trình nghiên cứu tại Pháp đã góp phần làm rõ và giải quyết các vấn đề gặp phải trong nghiên cứu tại Việt Nam, đồng thời mở rộng phương pháp tiếp cận bằng cách kết hợp giữa thực nghiệm và mô phỏng động lực học phân tử ■

Lời cảm ơn!

Xin chân thành cảm ơn Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện thuận lợi về nghiên cứu và hỗ trợ chuyên môn trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu. Đồng thời, nhóm nghiên cứu xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến chương trình học bổng thực tập sinh SMARTS-UP của Université Paris Cité đã mang đến cơ hội quý báu được nghiên cứu và học tập trong môi trường học thuật quốc tế. Sự hỗ trợ từ hai tổ chức là nền tảng quan trọng giúp nhóm nghiên cứu hoàn thành tốt đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Abdus Samad, Y. S. (2007). Liposomal drug delivery systems: an update. *Current drug delivery*, 4(4):297-305.
- Anil Kumar Sahdev, B. S. (2017). A study on liposomes: Classification techniques and importance. *Int. J. Res. Pharm. Pharm. Sci*, 2(6):55-60.
- D Peter Tieleman, S.-J. M. (1997). A computer perspective of membranes: molecular dynamics studies of lipid bilayer systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 1331(3):235-270.
- Faramarz Joodaki, L. M. (2022). Generation and computational characterization of a complex staphylococcus aureus lipid bilayer. *Langmuir*, 38(31):9481-9499.
- G. Arumugam, M. K. (2016). Plectranthus amboinicus (Lour.). *Molecules*, 21 (4): 369.
- Horne, D. B. (1964). Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope. *Journal of molecular biology*, 8 (5): 660-IN10.
- Jalil Parchekani, A. A.-M. (2022). Design and simulation of the liposomal model by using a coarse-grained molecular. *Scientific Reports*, 12(1):2371.
- Javad Saffari Chaleshtori, E. H.-S. (2016). Damage intensity of carvacrol on prostate cancer cells and its effects on molecular dynamic simulation of apoptotic factors. *Int J Pharmtech Res*, 9(6):261-273.
- Lisa Marinelli, A. D. (2018). Carvacrol and its derivatives as antibacterial agents. *Phytochemistry reviews*, 17:903-921.
- Natalia Sannikova, a. A. (2021). Effects of Concentrating Cannabinoid Loaded Liposome Formulations. *Formulation Associate Scientist at Ascension*.
- Pengfei She, S. L. (2020). Insights into idarubicin antimicrobial activity against methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Virulence*, 11(1):636-651.
- Ultee A., K. E. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 65(10), 4606-4610.

Ngày nhận bài: 22/4/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 2/5/2026

Ngày chấp nhận đăng bài: 12/5/2026.

EVALUATION OF THE INTERACTION OF CARVACROL MOLECULES WITH LIPOSOME MEMBRANES AND BACTERIAL MEMBRANES USING MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION

● BUI THI THU HA^{1,*}

● NGUYEN HOANG PHUONG²

¹Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh University of Technology

²Laboratory of Theoretical Biochemistry

- Institut de Biologie Physico-Chimique (IBPC)

*Corresponding author: habuibio@gmail.com

ABSTRACT:

This study employs molecular dynamics simulations to investigate the interaction between carvacrol and three model membrane systems, including soybean-derived liposome membranes, an artificial liposome membrane for compositional comparison, and the bacterial membrane of *Staphylococcus aureus*. Carvacrol ligands were obtained from the PubChem database, and membrane systems were constructed using CHARMM-GUI and simulated with GROMACS 2016 under the CHARMM36 force field, TIP3P water model, and NPT conditions at 303.15 K and 1 bar for 200 ns. The results show that carvacrol penetrates the membrane relatively early, typically before 25 ns, and remains stable within the membrane until the end of the simulation. In dimer and pentamer systems, some molecules tend to translocate to the opposite leaflet. Order parameter analysis indicates that all membranes remain fluid after interaction; notably, the DOPC/DPPC system exhibits lower *S_{cd}* values than soybean liposomes, suggesting more favourable release of carvacrol. These findings support further optimization of simpler liposome systems as carriers for carvacrol in antibacterial applications.

Keywords: carvacrol, molecular dynamics simulation, liposome membrane, *Staphylococcus aureus*.