

TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA PEPTIDE Cn-AMP3

*Bùi Thị Phương Hải¹, Đoàn Văn Kế¹, Phùng Minh Phương¹
Đoàn Ngân Hoa¹, Nguyễn Minh Đức¹, Lương Xuân Huy^{1*}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Tổng hợp toàn phần hoạt chất Cn-AMP3 quy mô phòng thí nghiệm và đánh giá tác dụng kháng khuẩn cùng khả năng gây tan máu của sản phẩm. **Phương pháp nghiên cứu:** Cn-AMP3 được tổng hợp bằng kỹ thuật tổng hợp peptide pha rắn (solid-phase peptide synthesis - SPPS). Hoạt tính sinh học của peptide được đánh giá thông qua phương pháp pha loãng và phương pháp đo độ vỡ hồng cầu. **Kết quả:** Peptide Cn-AMP3 được tổng hợp với hiệu suất 43,8% và độ tinh khiết > 98%. Sản phẩm cho thấy tác dụng kháng khuẩn yếu trên hai chủng vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* và *Staphylococcus aureus* nhưng hiệu quả được cải thiện rõ rệt khi kết hợp với kháng sinh kanamycin. Về độ an toàn, Cn-AMP3 gây tan máu < 5% ở nồng độ thử nghiệm cao nhất là 256 μ M. **Kết luận:** Đã tổng hợp thành công peptide Cn-AMP3 và bước đầu đánh giá được hoạt tính kháng khuẩn cũng như độ an toàn trên tế bào hồng cầu, cho thấy tiềm năng ứng dụng kết hợp với kháng sinh.

Từ khóa: Peptide kháng khuẩn; Tổng hợp peptide pha rắn; Cn-AMP3.

SYNTHESIS AND EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF PEPTIDE Cn-AMP3

Abstract

Objectives: To perform the total synthesis of the bioactive peptide Cn-AMP3 at a laboratory scale and evaluate its antibacterial activity and hemolytic potential. **Methods:** Cn-AMP3 was synthesized using solid-phase peptide synthesis (SPPS). The biological activity of the peptide was assessed via broth microdilution and hemolysis assays. **Results:** Cn-AMP3 was successfully synthesized with an overall yield of 43.8% and a purity exceeding 98%. The peptide exhibited weak antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*.

¹Đại học Phenikaa

*Tác giả liên hệ: Lương Xuân Huy (huy.luongxuan@phenikaa-uni.edu.vn)

Ngày nhận bài: 08/5/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 22/7/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i7.1337>

However, its efficacy was significantly enhanced when combined with the antibiotic kanamycin. Regarding safety, Cn-AMP3 induced less than 5% hemolysis at the highest tested concentration of 256 μ M. **Conclusion:** The peptide Cn-AMP3 was successfully synthesized and preliminarily evaluated for its antibacterial and hemolytic activities, which suggested its potential for use in combination therapies with conventional antibiotics.

Keywords: Antimicrobial peptide; Solid-phase peptide synthesis; Cn-AMP3.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, tình trạng kháng kháng sinh và kháng nấm đang diễn ra rất nghiêm trọng trên toàn cầu. Trong đó, những năm gần đây, Việt Nam đã phải chứng kiến mỗi đe dọa ngày càng gia tăng của kháng kháng sinh, do việc sử dụng kháng sinh không hợp lý tại các cấp của hệ thống chăm sóc sức khỏe, trong nuôi trồng thủy sản, trong chăn nuôi và trong cộng đồng [1]. Đây là mối đe dọa lớn với sức khỏe cộng đồng, ảnh hưởng đến sức khỏe và cuộc sống của người dân và sự phát triển tổng thể, bền vững của cả một quốc gia. Do vậy, nhu cầu cần thiết hiện nay là tìm ra và phát triển các kháng sinh mới phục vụ nhu cầu phòng và điều trị nhiễm khuẩn thay thế khác.

Ở Việt Nam, nước dừa từ lâu đã được biết đến như một loại thức uống giải khát giúp bổ sung dinh dưỡng, tăng cường trao đổi chất, giảm cân, cải thiện sức khỏe tim mạch. Bên cạnh đó, nước dừa còn có nhiều tác dụng khác đối với sức khỏe như kháng virus, kháng khuẩn, hỗ trợ điều trị nhiễm khuẩn

đường ruột, trị mụn trứng cá,... Gần đây, các nhà khoa học đã tìm ra trong nước của quả dừa xanh (*Cocos nucifera* L.) có chứa các hoạt chất peptide kháng khuẩn (antimicrobial peptides - AMPs). Trong đó Cn-AMP1, Cn-AMP2, Cn-AMP3 có khả năng chống lại nhiều vi khuẩn gây bệnh thuộc cả hai chủng Gram dương và Gram âm [2, 3]. Điều này mở ra triển vọng nghiên cứu ứng dụng các hoạt chất tự nhiên này trong các sản phẩm chăm sóc sức khỏe [4]. Theo tìm hiểu của nhóm nghiên cứu, trong khi đã có nhiều công bố về Cn-AMP1 và Cn-AMP2 [2, 5] thì hầu như có rất ít nghiên cứu được thực hiện trên Cn-AMP3. Cn-AMP3 là một chuỗi peptide gồm 8 amino acid với trình tự chuỗi H – L-Tyr – L-Cys – L-Ser – L-Tyr – L-Thr – L-Met – L-Glu – L-Ala – OH. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Tổng hợp toàn phần peptide tự nhiên Cn-AMP3 bằng SPPS với độ tinh khiết cao và bước đầu đánh giá tác dụng kháng khuẩn cùng khả năng gây tan máu của hoạt chất này.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Các α -amino acid sử dụng là Fmoc-Met-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH (nhóm Fmoc – (9H-fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl) và COMU (1-[(1-Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminoxy)-dimethylamino-morpholino]) uronium hexafluorophosphat) đều có độ tinh khiết > 98% (AK Scientific, Hoa Kỳ). 2-Chlorotrityl chlorid resin (100-200 mesh) (98%) (NovaBiochem, Đức). Các dung môi N,N-Diisopropylethylamin (DIPEA, 99%), N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP, 99%), Dimethylformamid (DMF, 99%), Dichloromethan (DCM, 99,5%), Trifluoroacetic acid (TFA, 99%), Acetonitril tiêu chuẩn HPLC (ACN, 99,8%) (Daejung, Hàn Quốc); Triisopropylsilan (TIS, 99,8%) (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ); Thioanisol (99%) (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ); Tryptone soya broth (TSB) (Merck, Đức).

* *Thiết bị*: Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) (Agilent 1260, Hoa Kỳ) và cột điều chế Zorbax C18 column (Agilent, 5 μ m, 9,4 x 250mm), cột phân tích Zorbax C18 column (Agilent, 3,5 μ m, 4,6 x 100mm); hệ thống đo phổ khối LC-MS (Agilent 6400 Series Triple Quadrupole B.08.00,

Hoa Kỳ); máy rung (Vortex, Velp Scientifica, Italia); tủ an toàn sinh học cấp 2 (Bio II Advance Plus, Telstar, Tây Ban Nha); máy quang phổ định lượng vi khuẩn (WPA CO8000, Biochrom, Anh); tủ ấm (LIB-080M, LabTech, Hàn Quốc); tủ ẩm lắc (LSI-3016A, LabTech, Hàn Quốc). Ngoài ra, máy ly tâm, máy tiệt trùng, bộ phản ứng Vacuum manifold, bơm chân không, máy lắc, máy siêu âm và các vật tư tiêu hao như ống polypropylen, đĩa 96 giếng, đầu tip xuất xứ từ Trung Quốc.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Nguyên tắc tổng hợp peptid pha rắn*:

(1). Gắn amino acid cuối cùng trong chuỗi vào resin thông qua nhóm carboxyl (nhóm amino còn lại và side-chain (nhóm R) đã được bảo vệ); (2). Tạo nhóm amino tự do bằng cách loại, sau đó cho phản ứng với nhóm cacboxyl của amino acid tiếp theo (cũng có nhóm amino và side-chain được bảo vệ); (3). Tiếp tục gắn amino acid cho đến khi chuỗi peptide được hoàn thành; (4). Cắt chuỗi peptide khỏi resin, loại nhóm bảo vệ ở các vị trí trong mạch và tinh chế.

* *Thực hiện chuỗi phản ứng tổng hợp Cn-AMP3*: Resin (60 μ mol, loading 1,195 mmol/g) được hoạt hoá trong DCM (5 phút) - DMF (10 phút) - DCM (5 phút) - DCM (5 phút) trước khi dùng. Các amino acid theo thứ tự được gắn vào bằng xúc tác COMU (tỷ lệ resin/amino acid/COMU 1/5/5) với sự có mặt của DIPEA dư và hoà tan bằng

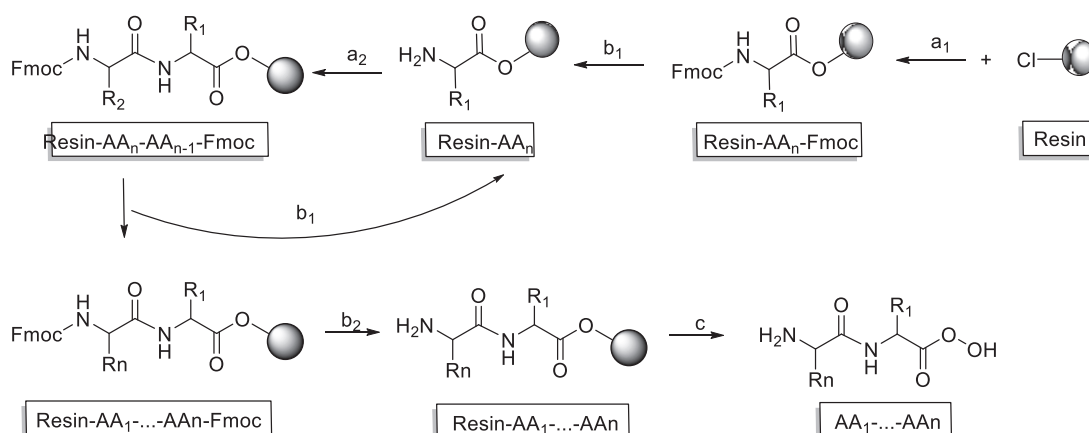
DMF, trừ amino acid đầu tiên hoà tan bằng DCM. Nhóm bảo vệ Fmoc được loại bỏ bằng cách sử dụng 20% Piperidine/DMF. Sau mỗi lần gắn amino acid hay loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc, resin được rửa lần lượt bằng

các dung dịch theo thứ tự DCM, DMF. Khối lượng các nguyên liệu sử dụng được trình bày cụ thể trong bảng 1. Sơ đồ thể hiện các phản ứng tổng hợp Cn-AMP3 được minh họa trong hình 1.

Bảng 1. Nguyên liệu chính sử dụng để tổng hợp Cn-AMP3.

Nguyên liệu	MW (g/mol)	Số lượng	Khối lượng (mg) thể tích (mL) [#]	Thể tích DMF sử dụng (mL)
Resin	313,22	1	50	-
Fmoc-Ala-OH	311,30	1	93	0,60
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	425,50	1	128	0,60
Fmoc-Met-OH	371,45	1	111	0,60
Fmoc-Thr(tBu)-OH	397,50	1	119	0,60
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	459,50	2	138	0,60
Fmoc-Ser(tBu)-OH	383,50	1	115	0,60
Fmoc-Cys(Trt)-OH	585,70	1	176	0,60
COMU	428,27	8	122	0,60
DIPEA	129,25	8	0,27mL	-

([#]: Tính cho một phản ứng gắn amino acid vào chuỗi peptide)



Hình 1. Minh họa quy trình tổng hợp Cn-AMP3.

a1. Fmoc-amino acid:DCM:DIPEA; a2. Fmoc-amino acid:COMU:DIPEA:DMF;
b1. Piperidin 20%/DMF; b2. Piperidin 20%/NMP; c. TFA:TIS:Thioanisole.

* *Tinh chế và kiểm tra độ tinh khiết:* Cn-AMP3 được cắt khỏi resin bằng hỗn hợp TFA/TIS/Thioanisole (tỷ lệ 95/2,5/2,5) trong 2 giờ, rồi làm khô qua đêm. Sau đó được hoà tan bằng hỗn hợp ACN/H₂O (tỷ lệ 50/50) và lọc để loại resin, sau cùng được tinh chế bằng hệ thống HPLC với cột Zorbax C18 column (Agilent, 5 μ m, 9,4 x 250mm) với chương trình 5 - 55% B trong 13 phút, 55 - 100% B trong 1 phút, 100% B trong 6 phút, 100 - 5% B trong 1 phút, 5% B trong 1 phút; A: 0,1% TFA/H₂O, B: 0,1% TFA/ACN; tốc độ dòng 3 mL/phút và đánh giá độ tinh khiết của sản phẩm trên hệ thống HPLC bằng cột Zorbax C18 3,5 μ m, 4,6 x 100mm với chương trình 5 - 100% B trong 8 phút, 100% B trong 1 phút, 100 - 5% B trong 2 phút, 5% B trong 1 phút; tốc độ dòng 1 mL/phút với hệ dung môi pha động A: 0,1%TFA/H₂O, B: 0,1%TFA/ACN. Đánh giá khối lượng phân tử của Cn-AMP3 bằng hệ thống LC/MS với chương trình 30 - 80% B trong 2 phút, 80 - 30% B trong 2 phút; A: 0,1% HCOOH/H₂O, B: 0,1% HCOOH/ACN; tốc độ dòng 1 mL/phút; vùng khối 400 - 2000 Dalton. Nhận biết Cn-AMP3 dựa vào bước sóng đặc trưng của liên kết amide ở 220nm hoặc 254nm của tyrosine.

* *Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn:* Hoạt tính kháng khuẩn của Cn-AMP3

được đánh giá thông qua giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được xác định bằng phương pháp pha loãng vi lượng trong môi trường canh thang tiêu chuẩn dựa theo nghiên cứu [6] với một vài điều chỉnh nhỏ. Đánh giá được thực hiện đối với riêng Cn-AMP3 và khả năng hiệp đồng với kháng sinh kanamycin trên vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 và vi khuẩn Gram âm *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883. Kanamycin là chứng dương. Ngoài ra, trong hỗn hợp với Cn-AMP3, kanamycin được sử dụng ở nồng độ bằng ¼ nồng độ ức chế tối thiểu. Môi trường nuôi cấy vi khuẩn TSB (Tryptone soya broth) được pha với nồng độ 30 g/L H₂O được dùng làm chứng âm nhằm kiểm soát sự nhiễm khuẩn của môi trường nuôi cấy. Mẫu so sánh là dịch nuôi cấy pha loãng trong TSB. Cách tiến hành: Cn-AMP3 được pha loãng theo dải nồng độ từ 320 - 2560 μ M trong nước cất hai lần đã được tiệt trùng. 20 μ L dung dịch peptide được thêm vào 180 μ L dịch nuôi cấy vi khuẩn để đạt nồng độ cuối cùng 32 - 256 μ M. Tiến hành đo mật độ quang (OD) của mẫu ở các mốc thời gian 0 giờ và 24 giờ sau khi ủ ở 37°C. Mỗi thử nghiệm được lặp lại trong ba thí nghiệm độc lập. Sự ức chế tăng trưởng của vi khuẩn được xác định bằng công thức sau:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{\text{OD}_{620\text{nm}}\text{mẫu so sánh} - \text{OD}_{620\text{nm}}(\text{peptide/kanamycin})}{\text{OD}_{620\text{nm}}\text{mẫu so sánh}} \times 100\%$$

Giá trị MIC là nồng độ tối thiểu mà phần trăm ức chế đạt giá trị $\geq 95\%$.

* *Đánh giá độc tính tan máu*: Các peptide được hòa tan trong đệm PBS. 10 μ L dung dịch peptide được thêm vào 190 μ L hỗn dịch hồng cầu người 10% (tt/tt) trong PBS để đạt nồng độ cuối cùng 2 - 128 μ M. Ủ hỗn hợp trong 30 phút ở 37°C. Sau khi ly tâm, dịch nổi được pha loãng 10 lần bằng PBS và tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 405nm. Đệm PBS được sử dụng làm mẫu trắng (blank). Hỗn dịch hồng cầu được xử lý với 0,2% Triton X-100 được sử dụng làm mẫu so sánh [7]. Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần. Tỷ lệ phần trăm tan máu được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ Tan máu} = \frac{\text{OD}_{405\text{nm}}\text{peptide} - \text{OD}_{405\text{nm}}\text{mẫu trắng}}{\text{OD}_{405\text{nm}}\text{mẫu so sánh} - \text{OD}_{405\text{nm}}\text{mẫu trắng}} \times 100\%$$

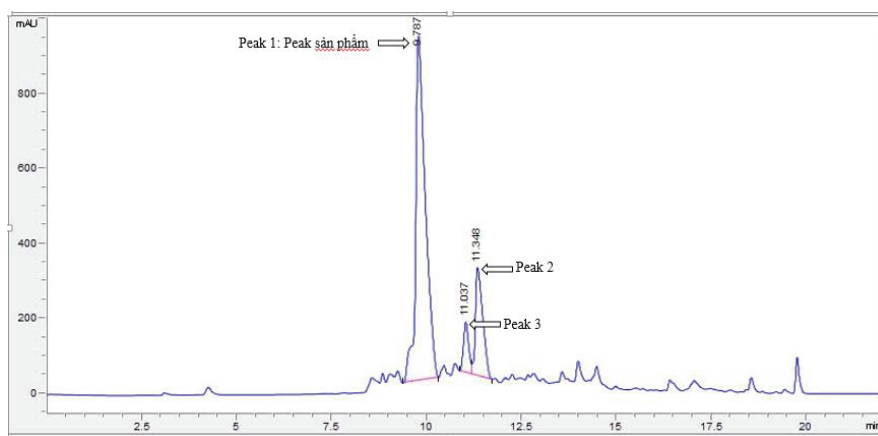
3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo Quyết định số 15/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 26/6/2023 và số 27/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 02/8/2023. Số liệu được Đại học Phenikaa cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

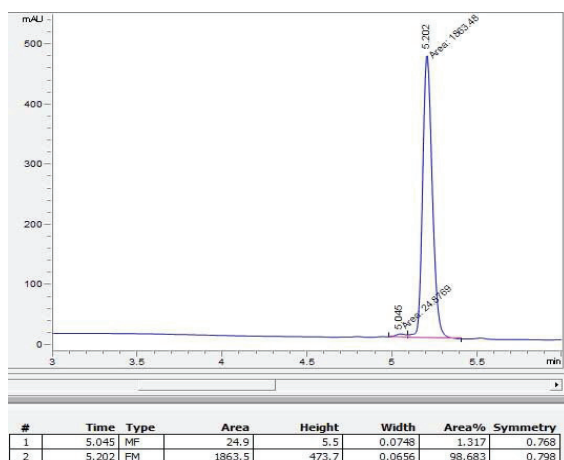
1. Tổng hợp và tinh chế Cn-AMP3

Trong quá trình gắn các amino acid theo trình tự chuỗi của Cn-AMP3, các phản ứng được theo dõi bằng thuốc thử Kaiser. Sau phản ứng gắn amino acid, lấy vài hạt resin tiến hành kiểm tra với thuốc thử Kaiser [8]. Sau khi quá trình tổng hợp hoàn thành, sản phẩm thô được tinh chế bằng hệ thống HPLC (Hình 2).



Hình 2. Sắc ký đồ quá trình chạy tinh chế Cn-AMP3. Các peak 1, 2, 3 đã được húng và chỉ có peak 1 có số khối trùng với lý thuyết của Cn-AMP3.

Peak sản phẩm được xác định là peak có chỉ số thời gian lưu 9,787 phút. Sản phẩm sau tinh chế được đánh giá độ tinh khiết trên hệ thống HPLC (Hình 3).

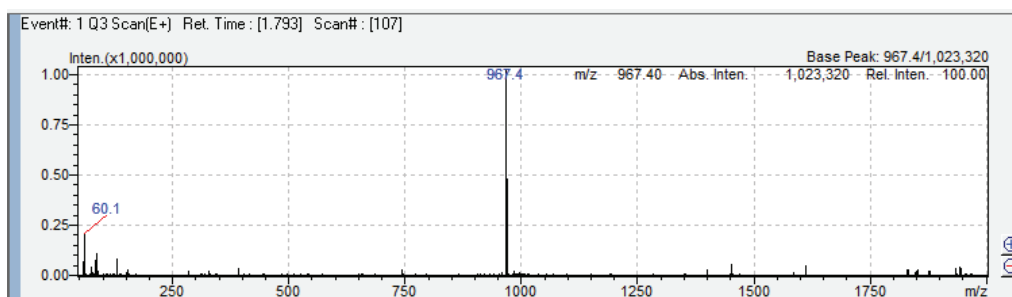


Hình 3. Sắc ký đồ phân tích mẫu Cn-AMP3 sau tinh chế bằng hệ thống HPLC (bên trái) và Cn-AMP3 sau đông khô (bên phải)

Kết quả đánh giá trên HPLC tại bước sóng 220nm xác định được peak của sản phẩm tại 5,202 phút với độ tinh khiết 98,7%. Cn-AMP3 sau tinh chế được cất quay để loại bỏ bớt dung môi và tiến hành đông khô. Kết quả đã thu được 25,4mg Cn-AMP3, hiệu suất toàn quá trình đạt 43,8%. Sản phẩm thu được ở dạng bột trắng xốp, không mùi (Hình 3).

2. Đánh giá khối lượng phân tử của Cn-AMP3 bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ

Cn-AMP3 với độ tinh khiết 98,7% được tiếp tục xác định khối lượng phân tử bằng hệ thống LC-MS. Kết quả phổ khối của Cn-AMP3 được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Phổ khối của Cn-AMP3 sau tinh chế.

So sánh giá trị khối thực nghiệm thu được từ hình 4 (967,40) với giá trị khối lý thuyết của Cn-AMP3 (967,44) cho thấy sai số giữa hai giá trị này không đáng kể (0,004%). Như vậy, sản phẩm thu được đúng là Cn-AMP3.

3. Đánh giá tác dụng kháng khuẩn

Trong thí nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, Cn-AMP3 cho thấy hiệu lực thấp, với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) vượt quá nồng độ thử nghiệm cao nhất (256 μ M). Tuy nhiên, khi được phối hợp với kháng sinh kanamycin, hoạt tính kháng khuẩn tăng lên rõ rệt (Bảng 2).

Bảng 2. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của Cn-AMP3.

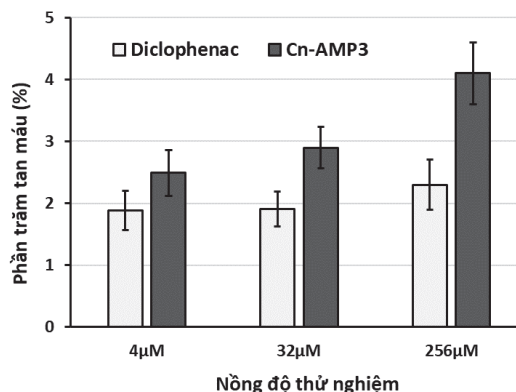
Chủng sinh vật thử nghiệm	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)		
	Cn-AMP3	Kanamycin	Cn-AMP3 (+Kanamycin*)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 256 μ M	8 μ M	64 μ M (+2 μ M)
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 256 μ M	16 μ M	256 μ M (+4 μ M)

(*: Kanamycin trong hỗn hợp với Cn-AMP3 được sử dụng ở nồng độ bằng $\frac{1}{4}$ nồng độ ức chế tối thiểu)

Kết quả này cho thấy tiềm năng của Cn-AMP3 trong việc tăng cường hiệu quả của kháng sinh, từ đó góp phần giảm liều sử dụng, hạn chế độc tính liên quan đến kháng sinh và giảm nguy cơ hình thành tình trạng kháng thuốc ở vi khuẩn.

4. Đánh giá mức độ gây tan máu

Khả năng gây tan máu của Cn-AMP3 được đánh giá trên tế bào hồng cầu người. Trong thí nghiệm này, diclofenac, một chất không gây phá hủy hồng cầu, được sử dụng làm đối chứng âm. Kết quả đánh giá độc tính tan máu của Cn-AMP3 được thể hiện ở hình 5.



Hình 5. Kết quả đánh giá độc tính tan máu của Cn-AMP3.

Kết quả cho thấy Cn-AMP3 chỉ gây tan máu < 5% ở nồng độ thử nghiệm cao nhất (256 μ M), sự khác biệt so với nhóm đối chứng gần như không đáng kể. Điều này cho thấy Cn-AMP3 có mức độ an toàn cao đối với tế bào hồng cầu.

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tổng hợp thành công peptide Cn-AMP3 bằng kỹ thuật tổng hợp peptide pha rắn với độ tinh khiết cao và hiệu suất phù hợp cho nghiên cứu quy mô phòng thí nghiệm. Việc xác nhận chính xác khối lượng phân tử bằng LC-MS và một sắc ký đồ HPLC rõ nét cho thấy sản phẩm tổng hợp có độ tinh sạch cao, đáp ứng yêu cầu cho các thử nghiệm sinh học tiếp theo.

Về mặt sinh học, Cn-AMP3 cho thấy hoạt tính kháng khuẩn đơn độc tương đối yếu trên hai chủng vi khuẩn Gram âm và Gram dương điển hình (*K.pneumoniae* và *S.aureus*). Tuy nhiên, điều đáng chú ý là khi phối hợp với kháng sinh kanamycin, peptide này làm tăng rõ rệt hiệu quả kháng khuẩn, đặc biệt là trên *K. pneumoniae*. Điều này phù hợp với hướng nghiên cứu kết hợp peptide kháng khuẩn với kháng sinh nhằm tăng hiệu lực điều trị và giảm thiểu nguy cơ kháng thuốc, đã được ghi nhận trong các nghiên cứu gần đây. Một ưu điểm quan trọng của Cn-AMP3 là khả năng gây tan máu rất thấp, < 5% ngay cả ở nồng độ cao nhất được thử nghiệm (256µM). Điều này cho thấy peptide này có tiềm năng phát triển trong các ứng dụng điều trị khi kết hợp với kháng sinh, mà không làm tăng nguy cơ độc tính trên tế bào người - một

yếu tố then chốt trong phát triển dược phẩm từ peptide. Trong tương lai, cần mở rộng nghiên cứu đánh giá hiệu quả phối hợp của Cn-AMP3 với các kháng sinh khác, cũng như xác định cơ chế hiệp đồng và phạm vi tác dụng kháng khuẩn cụ thể hơn.

KẾT LUẬN

Peptide Cn-AMP3 đã được tổng hợp thành công với độ tinh khiết cao bằng phương pháp tổng hợp peptide pha rắn. Mặc dù hoạt tính kháng khuẩn đơn độc của peptide còn hạn chế, nhưng hiệu quả được cải thiện rõ rệt khi kết hợp với kháng sinh kanamycin. Cùng với mức độ an toàn cao trên tế bào hồng cầu người, Cn-AMP3 cho thấy tiềm năng trong chiến lược phối hợp peptide - kháng sinh nhằm nâng cao hiệu quả điều trị và giảm nguy cơ kháng thuốc. Nghiên cứu tiếp theo nên tập trung mở rộng phổ thử nghiệm và đánh giá cơ chế tác dụng cũng như hiệu quả trên mô hình động vật để làm rõ hơn tiềm năng ứng dụng lâm sàng của Cn-AMP3.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này nằm trong khuôn khổ đề tài “*Tổng hợp và cải tiến các peptide có tiềm năng điều trị nhiễm khuẩn và nấm trong nước dừa Cocos nucifera*” mã số 108.05-2021.06 được hỗ trợ tài chính từ Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. RM Zellweger, J Carrique-Mas, D Limmathurotsakul, et al. A current perspective on antimicrobial resistance in Southeast Asia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2017; 72(11):2963-2972, <https://doi.org/10.1093/jac/dkx260>.
2. M Hayes and S Bleakley. 21-Peptides from plants and their applications. *Peptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering*. 2018:603-622. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100736-5.00025-9>.
3. MJ Santana, AL de Oliveira, LHK Queiroz Júnior, et al. Structural insights into Cn-AMP1, a short disulfide-free multifunctional peptide from green coconut water. *FEBS Letters*. 2015; 589(5):639-644, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.01.029>.
4. HD Ngan, BL Huy, CL Uyen, et al. Antimicrobial peptides in green coconut water: from nutritional benefits to multifunctional applications for human health. *European Food Research and Technology*. 2025. <https://doi.org/10.1007/s00217-025-04754-6>.
5. A Narayanankutty, JT Job, A Moothakoottil Kuttithodi, et al. Proximate composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic properties of the haustorium from Coconut (*Cocos nucifera* L.) and Palmyra palm (*Borassus flabellifer* L.). *Journal of King Saud University - Science*. 2023; 35(1):102404, <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102404>.
6. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. 2003; 9:ix-xv. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00790.x>
7. Luong HX, Kim DH, Lee BJ, et al. Antimicrobial and hemolytic activity of stapled heptapeptide dimers. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2016; 37(8):1199-1203. <https://doi.org/10.1002/bkcs.10839>.
8. Bùi Thị Phương Hải, Đoàn Ngân Hoa, Hoàng Văn Hải, Trương Thanh Tùng, Lương Xuân Huy. Nghiên cứu tổng hợp toàn phần hoạt chất pentapeptide-3. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2024; 49(6):17-27. <https://doi.org/10.56535/jmpm.v49i6.488>.