

# KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA MỘT SỐ CÂY THUỐC

Nguyễn Hoàng Chương, Nguyễn Đức Trúc, Hồ Huỳnh Thùy Dương

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 6 tháng 5 năm 2003, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 06 tháng 5 năm 2003)

**TÓM TẮT:** Chúng tôi chọn lọc và khảo sát 20 cây thuốc nhằm phát hiện hoạt chất có tính kháng khuẩn. Hoạt chất từ cây thuốc được thu nhận trong ba phân đoạn ether dầu hỏa, chloroform và methanol. Tính kháng khuẩn được xác định qua các thử nghiệm kháng sinh đồ và xác định MIC (Nồng độ tối thiểu có khả năng ức chế). Kết quả cho thấy phân đoạn methanol của lá Mua (*Melastoma affine*) và lá Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour) có hoạt tính kháng khuẩn cao trên cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm.

## Tổng quan

Hiện nay trên thế giới, một khuynh hướng đang phát triển là khuynh hướng sử dụng thuốc có nguồn gốc tự nhiên bên cạnh việc tổng hợp nhân tạo các dược chất mới. [6] Việc khai thác nguồn tài nguyên thực vật để phòng chữa bệnh và nâng cao sức khỏe con người đã bắt nguồn từ thời tiền sử ở nhiều vùng trên thế giới. Trong khoảng 250.000 loài thực vật được sử dụng làm thuốc, có đến 155.000 loài được tìm thấy ở vùng nhiệt đới; riêng Việt Nam có ước chừng 12.000 loài. Nền y học cổ truyền, dựa trên việc sử dụng cây cỏ và chất có nguồn gốc động vật có dược tính cao, cũng đã xuất hiện từ lâu đời ở nước ta. Tiếp thu các kinh nghiệm dân gian và công trình của những bậc danh y như Tuệ Tĩnh, Hải Thượng Lãn Ông, nền y tế nước ta luôn khuyến khích việc phát triển nuôi trồng và sử dụng những cây, con dùng làm thuốc đồng thời nghiên cứu phát hiện những dược liệu mới.

Trong số các bệnh phổ biến ở những nước đang phát triển như nước ta, bệnh nhiễm khuẩn chiếm tỷ lệ quan trọng. Nhiều bài thuốc dân gian đã sử dụng chất chiết từ cây để điều trị hiệu quả nhiều bệnh nhiễm khuẩn như tiêu chảy, mụn nhọt, đau họng, .... Trong đề tài này, chúng tôi khảo sát một số cây thuốc nhằm phát hiện những cây có tác dụng kháng khuẩn cao, tạo điều kiện cho việc nghiên cứu sâu hơn bản chất hoá học cũng như cơ chế tác động của chúng.

## Vật liệu - Phương pháp

### Nguồn cây thuốc

Toàn bộ 20 cây thuốc được thu hái ở vườn thuốc nam Phước Thiện – Tịnh độ cư sĩ Phật hội Việt Nam – tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu, riêng cây Mua được thu hái tại Đà Lạt. Các cây thuốc này được chọn khảo sát dựa trên các tài liệu về y học cổ truyền và một số công trình nghiên cứu trong và ngoài nước. Nguyên liệu sử dụng phần lớn là lá, đối với một số cây là thân hay toàn cây.

Các cây thuốc bao gồm: Sầu đâu rừng (*Brucea javanica* (L.) Merr – Simarubaceae), Mua (*Melastoma affine* – Melastomataceae), Bông ổi (*Lantana camara* L. – Verbenaceae), Mò đỏ (*Clerodendron infortunatum* L. – Verbenaceae), Mò trắng (*Clerodendron fragrans* Vent – Verbenaceae), Trắc bá diệp (*Thuja orientalis* – Cupressaceae), Ngũ gia bì (*Acanthopanax aculeatus* – Araliaceae), Bạch hoa xà (*Plumbago zeylanica* L. – Plumbaginaceae), Bàng biển (*Calotropis gigantea* R. – Asclepiadaceae), Nhàu (*Morinda citrifolia* L. – Rubiaceae), Đơn kim (*Bidens pilosa* L. – Asteraceae), Sài đất (*Wedelia calendulacea* (L.) Less – Asteraceae), Bình bát (*Annona glabra* – Annonaceae), Hoắc hương (*Agastache rugosa* – Lamiaceae), Bụp giấm (*Hibiscus sabdariffa* – Malvaceae), Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* Nees. – Acanthaceae), Kim vàng (*Barleria lupulina* Lindl. – Acanthaceae), Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour – Euphorbiaceae), Tô mộc (*Caesalpinia sappan* L. – Caesalpinaceae), Lưỡi đồng (*Dianella ensifolia* DC. – Liliaceae).



### **Vi sinh vật kiểm định**

Các chủng vi khuẩn do Khoa Vi sinh – Bệnh Viện Bệnh Nhiệt Đới Tp HCM cung cấp, bao gồm *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*.

### **Các loại môi trường**

Môi trường canh thang cao thịt – pepton, BA (Blood Agar), Mueller – Hinton Agar (MHA), Mueller – Hinton Agar bổ sung thêm 5% máu cừu, Mueller – Hinton Broth (MHB)

### **Phương pháp thu nhận các cao hoạt chất**

Cây thuốc sau khi thu hái được sấy khô ở 60°C đến khối lượng không đổi và được xay nhỏ. Hoạt chất được chiết xuất bằng phương pháp Soxhlet với ba loại dung môi petroleum ether, chloroform, methanol. Sau đó, cao hoạt chất được thu nhận bằng phương pháp cô quay.

### **Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn [7]**

Hoạt tính kháng khuẩn của các chế phẩm thử được xác định bằng kỹ thuật khuếch tán trên môi trường thạch. Các phân đoạn cao được pha loãng với dung môi thích hợp để đạt nồng độ thử là 100mg/ml. Các khoanh giấy lọc tiệt trùng, có đường kính 6mm, tẩm với 0.02ml chế phẩm thử được đặt lên mặt môi trường MHA (đối với *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *V. cholerae*, *P. aeruginosa*) và MHA bổ sung 5% máu cừu (đối với *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*) đã được trải đều vi khuẩn trước đó. Kết quả được đánh giá bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn sau 18 giờ nuôi cấy ở 37°C.

### **Phương pháp MIC (Minimum Inhibitory Concentration) [7]**

MIC (nồng độ tối thiểu có tác dụng ức chế) của một phân đoạn hoạt chất được xác định bằng cách cấy vi khuẩn lên các đĩa Petri với môi trường thạch có chứa hoạt chất với nồng độ giảm dần : 1024µg/ml; 512µg/ml; 256µg/ml; 128µg/ml; 64µg/ml; 32µg/ml; 16µg/ml; 8µg/ml; 4µg/ml; 2µg/ml. Nồng độ hoạt chất ở đĩa Petri bắt đầu có tác dụng ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn chính là MIC của hoạt chất đối với chủng vi khuẩn thử nghiệm.

### **Kết quả – Thảo luận**

#### **Thu nhận các cao hoạt chất**

Chúng tôi thu nhận được 20 phân đoạn cao ether dầu hỏa, 20 phân đoạn cao chloroform và 20 phân đoạn cao methanol từ 20 cây thuốc khảo sát.

#### **Hoạt tính kháng khuẩn của ba loại cao chiết xuất từ 20 cây thuốc**

Các vi khuẩn sử dụng trong thử nghiệm bao gồm cả vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pneumoniae*) và Gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *V. cholerae*, *N. meningitidis*). Điều này cho phép đánh giá mức độ cũng như phổ kháng khuẩn của các phân đoạn cao chứa hoạt chất. Kết quả được trình bày trong bảng 1.



Bảng 1 : Kết quả kháng sinh đồ trên 60 phân đoạn cao với 08 chủng vi khuẩn

## Phân đoạn cao ether dầu hỏa

Vi sinh vật / Cây thuốc	1	2	3	4	5	6	7	8
Sầu đầu rừng (lá)	10	-	-	-	10	-	10	-
Mua (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Trâm ổi (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Trắc bá diệp (cành)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ngũ gia bì (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bạch hoa xà (lá)	20	8	-	-	10	-	-	-
Bàng biển (lá)	-	-	-	-	7	-	-	-
Nhàu (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Đơn kim (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Lưỡi đồng (toàn cây)	8	-	-	-	-	-	-	-
Mò đỏ (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bình bát (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoắc hương (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Mò trắng (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sài đất (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	7	-
Bụp giấm (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Xuyên tâm liên (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Đơn lá đỏ (lá)	11	-	-	-	-	11	-	-
Kim vàng (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Tô mộc (thân)	-	-	-	-	-	-	7	-

## Phân đoạn cao chloroform

Vi sinh vật / Cây thuốc	1	2	3	4	5	6	7	8
Sầu đầu rừng (lá)	-	-	-	-	8.5	-	9	-
Mua (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Trâm ổi (toàn cây)	-	-	-	-	7	-	7	-
Trắc bá diệp (cành)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ngũ gia bì (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bạch hoa xà (lá)	15	-	-	-	-	-	-	-
Bàng biển (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Nhàu (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Đơn kim (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Lưỡi đồng (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Mò đỏ (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bình bát (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoắc hương (toàn cây)	-	-	-	10	-	-	-	-



Vi sinh vật Cây thuốc	1	2	3	4	5	6	7	8
Mồ trắng (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sài đất (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bụp giấm (lá)	-	-	-	-	-	-	8	-
Xuyên tâm liên (lá)	10	-	-	-	-	-	7	-
Đơn lá đỏ (lá)	-	-	-	8	-	-	-	-
Kim vàng (lá)	-	-	-	10	-	-	-	-
Tô mộc (thân)	-	-	-	-	-	-	-	-

**Phân đoạn cao methanol**

Vi sinh vật Cây thuốc	1	2	3	4	5	6	7	8
Sầu đâu rừng (lá)	16	-	12	-	11	-	-	-
Mua (lá)	20	12	10	16	14	12	-	9
Trâm ổi (toàn cây)	8	-	-	-	-	-	-	-
Trắc bá diệp (cành)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ngũ gia bì (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bạch hoa xà (lá)	16	-	-	-	-	-	-	12
Bàng biển (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Nhàu (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Đơn kim (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Lưỡi đồng (toàn cây)	-	-	-	-	-	-	-	-
Mồ đỏ (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bình bát (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoắc hương (toàn cây)	10	-	-	-	-	-	-	-
Mồ trắng (lá)	9	-	-	-	-	-	-	-
Sài đất (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bụp giấm (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Xuyên tâm liên (lá)	-	-	-	-	-	-	-	-
Đơn lá đỏ (lá)	17	8	15	11	11	13	8	-
Kim vàng (lá)	14	-	-	-	-	-	-	-
Tô mộc (thân)	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú : 1: *S. aureus*

2: *E. coli*

3: *P. aeruginosa*

4: *S. enteritidis*

5: *V. cholerae*

6: *B. subtilis*

7: *S. pneumoniae*

8: *N. meningitidis*

Kết quả trên cho thấy:

- Lá Bạch hoa xà (*Plumbago zeylanica* L.) có tác dụng kháng *S. aureus* tốt ở cả ba phân đoạn cao khảo sát.

- Lá Mua (*Melastoma affine*) và lá Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) có tác dụng kháng khuẩn tốt với phổ kháng rộng đối với phân đoạn cao methanol.

**Xác định MIC của các phân đoạn cho kết quả kháng sinh đồ dương tính**

Chúng tôi chọn phân đoạn cao methanol của lá Mua và lá Đơn lá đỏ do hoạt tính kháng khuẩn cao và phổ rộng để tiến hành xác định MIC của chúng đối với 08 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Kết quả cho thấy:



- Phân đoạn methanol của lá Mua có MIC đối với *S. aureus* là 1024 $\mu$ g/ml. Theo các tài liệu về hoạt chất kháng khuẩn tự nhiên thì với giá trị MIC này, phân đoạn trên có thể được tiếp tục nghiên cứu để xác định chất có hoạt tính mong muốn trong phân đoạn.
- Phân đoạn methanol của lá Đơn lá đỏ không cho kết quả với các nồng độ sử dụng.

### Kết luận

Chúng tôi đã thu thập, chiết xuất và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của 20 cây thuốc. Kết quả khảo sát ba phân đoạn ether dầu hỏa, chloroform, methanol của các cây thuốc cho thấy phân đoạn cao methanol của lá Đơn lá đỏ và lá Mua, đặc biệt là lá Mua, có hoạt tính kháng khuẩn tốt với phổ rộng cần được tiếp tục nghiên cứu

## INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF SOME MEDICAL PLANTS

Nguyen Hoang Chuong, Nguyen Duc Truc, Ho Huynh Thuy Duong

**ABSTRACT:** We collected 20 medicinal plants and investigated their antibacterial effects. These plants were extracted using petroleum ether, chloroform and methanol solvents. Antibacterial activities were investigated by agar diffusion test and MIC determination. Results showed that methanol extracts of *Melastoma affine* and *Excoecaria cochinchinensis* Lour have good antibacterial effects against Gram positive as well as Gram negative bacteria.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Cowan M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12:564-582. 1999
- [2] Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. *Nhà xuất bản Y học*. 1999
- [3] Nguyễn Đức Minh. Tính kháng khuẩn của cây thuốc Việt Nam. *Nhà xuất bản Y học*. 1975
- [4] Ranjt Roy Chaudhury. Natural medicinal agents – Herbal medicines – Natural medicinal products in *Principles of Pharmacology – Basic concepts and clinical applications*, edited by Munson P.L., Chapman & Hall – New York, 1529-1533. 1995