

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CHỦ YẾU CỦA MỘT SỐ LOÀI THỰC VẬT CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN TẠI THỪA THIÊN HUẾ

Trần Đình Bình¹, Nguyễn Thị Hoài², Hoàng Vĩnh Thông³,
Trần Thị Như Hoa¹, Huỳnh Thị Hải Đường¹, Lê Nữ Xuân Thanh¹

(1) Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y Dược Huế

(2) Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Huế

(3) Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Huế

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát, lựa chọn các loài thực vật có khả năng khai thác đưa vào sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn và bước đầu định tính các nhóm chất hữu cơ trong các loài thực vật có tác dụng kháng khuẩn tốt.

Vật liệu và phương pháp: 1 loài thực vật không có tác dụng kháng khuẩn làm đối chứng mẫu. Các loài cây được chọn gồm: Phèn đen, É dùi trống, Mào gà, Mạn kinh, Ngâu, Quỷ châm thảo, Cà gai hoa trắng, Vòi voi, Cỏ lào, Phi lao, Lục bình, Đuôi chuột, Bông ổi, Nho, Ké hoa đào, Kim phượng, Duối ô rô, Cam thảo nam và Khoai lang. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của từng loại dịch chiết theo phương pháp kháng sinh đồ trên các chủng vi khuẩn ATCC và vi khuẩn gây bệnh. Định tính các nhóm chất hữu cơ theo phương pháp sàng lọc các nhóm hợp chất thiên nhiên có trong 6 loài cây có hoạt tính kháng khuẩn cao bằng các phản ứng hóa học đặc trưng. **Kết quả và bàn luận:** Lựa chọn được một số loại cây có khả năng khai thác, có thể tạo nên một nguồn nguyên liệu dồi dào, rẻ tiền và ứng dụng tại địa phương có hoạt tính kháng khuẩn, trong đó có 6 loài thực vật có hoạt tính kháng khuẩn cao là Phèn đen, Cỏ lào, Phi lao, Nho núi, Ké hoa đào, Kim phượng. Nhiều nhóm chất hữu cơ có mặt trong 6 loại dược liệu này tham gia vào hoạt tính kháng khuẩn như các alkaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim, saponin, tanin... Có loại dược liệu có đủ các hoạt chất này, nhưng cũng có loại chỉ chứa một số ít các hoạt chất có tính kháng khuẩn. **Kết luận:** Nhiều nhóm chất hữu cơ có mặt trong 6 loại dược liệu này tham gia vào hoạt tính kháng khuẩn như các alkaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim, saponin, tanin...

Abstract:

DETERMINE OF SOME MAJOR CHEMICAL COMPOSITION IN SOME PLANT SPECIES THAT HAVE ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN THUA THIEN HUE

Tran Dinh Binh¹, Nguyen Thi Hoai², Hoang Vinh Thong³,
Tran Thi Nhu Hoa¹, Huynh Thi Hai Duong¹, Le Nu Xuan Thanh¹

(1) Dept of Microbiology, Hue University of Medicine and Pharmacy

(2) Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy

(3) Dept of Biology, Hue Scientific University

Objectives: To survey and select of medical plants that are capable of exploiting which determined of their antibacterial activity and screened the initial characterization of the group of organic substances that have antibacterial effect. **Material and methods:** Select the 18 medical plants species to screen antibacterial activity on a number of ATCC strains bacteria and the bacteria cause common diseases. One plant has no antibacterial effect used as the control sample that is yam. The selected plant species are 18 medicinal plants used in civil: *Phyllanthus reticulatus* Poir.; *Hyptis brevipes* Poit.; *Celosia argentea* L.; *Vitex trifolia* L. f. ; *Aglaia duperreana* Pierre; *Bidens pilosa* L.; *Solanum torvum* Swartz.; *Heliotropium indicum* L.; *Chromolaena odorata* (L) R.M.King & H.Bob.; *Casuarina equisetifolia* J.R et G. Forst.; *Eichhornia crassipes* (Maret) Solms ; *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl.; *Lantana camara*

L.; *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv.; *Urena lobata* L.; *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.; *Scoparia dulcis* L.; *Streblus ilicifolius* (Vidal). Determination of antibacterial activity of each extract by the method of antibiotic sensitivity on the ATCC strains bacteria and the bacteria cause common diseases. Identification the group of organic substances by method of screening groups of natural compounds in plants by the characteristic chemical reactions. **Results and discussions:** Selected some plants have the ability to exploit, can create an abundant raw materials, cheap and easily applying in local that have antibacterial activity. There are 6 medical plants which namely: *Phyllanthus reticulatus* Poir , *Chromolaena odorata* (L) R.M.King & H.Bob, *Casuarina equisetifolia* J.R et G. Forst, *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv, *Urena lobata* L, Kim Phuong *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw that have good antimicrobial activity. Many groups of organic compounds present in these medical plants participate in antibacterial activity as alkaloids, coumarin, flavonoids, heart glycosid, saponins, tannins ... Some medical plants have enough of the organic compounds, but some contains only one or several organic compounds that have antibacterial properties. **Conclusions:** Many groups of organic compounds present in these medical plants participate in antibacterial activity as alkaloids, coumarin, flavonoids, heart glycosid, saponins, tannins...

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo các số liệu thống kê mới nhất, thảm thực vật Việt Nam, nguồn tài nguyên sinh học quý giá, có trên 1.2000 loài, trong số đó có tới hơn 3.200 loài được sử dụng làm thuốc hay thực phẩm chức năng trong Y học dân gian [1], [8]. Thừa Thiên Huế nằm ở vĩ tuyến 16 độ vĩ Bắc, giữa vành đai nội chí tuyến Bắc bán cầu, là nơi giao thoa của hai miền khí hậu nhiệt đới ở phía Nam và á nhiệt đới ở phía Bắc. Thừa Thiên Huế có khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm đặc trưng với nền nhiệt độ cao, bức xạ dồi dào, và đặc biệt là chế độ mưa của vùng đất này không giống bất kỳ nơi nào khác ở Việt Nam. Do đó ở Thừa Thiên Huế số lượng các loài thực vật cao hơn hẳn các nơi khác [2]. Tuy nhiên vấn đề sàng lọc các cây thuốc hiện nay trên địa bàn tỉnh chưa được quan tâm đúng mức, đặc biệt là còn rất ít các nghiên cứu về sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn của các dược liệu có khả năng khai thác ở địa phương.

Hiện nay việc sử dụng kháng sinh tân dược trong phòng và chữa bệnh gặp phải nhiều khó khăn do vi khuẩn kháng thuốc. Nhiều loại kháng sinh tân dược hiện nay đã bị các chủng vi khuẩn gây bệnh đề kháng [12]. Hướng nghiên cứu và ứng dụng các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên trong y, dược học luôn thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học [14]. So với kháng sinh tân dược, người ta thấy rằng, kháng sinh có nguồn gốc từ thực vật tuy không mạnh bằng nhưng có nhiều ưu điểm như: chữa khỏi nhiều bệnh nhiễm khuẩn, ít bị các

vi khuẩn kháng thuốc, ít độc, ít gây ra những tai biến nguy hiểm. Giới hạn an toàn của kháng sinh thực vật rộng hơn nhiều so với kháng sinh tân dược [6].

Với mong muốn làm sáng tỏ kinh nghiệm sử dụng trong dân gian, định hướng phát triển các loại kháng sinh thực vật nhằm kiểm soát sự gia tăng vi khuẩn kháng thuốc, đưa dược liệu vào sử dụng một cách khoa học hơn và có thể đẩy mạnh khai thác sử dụng cây thuốc trong việc phòng và chữa bệnh cho nhân dân chúng tôi thực hiện đề tài: **“Xác định một số thành phần hóa học chủ yếu của một số loài thực vật có khả năng kháng khuẩn ở Thừa Thiên Huế”** với mục tiêu: *Khảo sát, lựa chọn các loài thực vật có khả năng khai thác đưa vào sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn và bước đầu định tính các nhóm chất hữu cơ trong các loài thực vật có tác dụng kháng khuẩn tốt.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Lựa chọn các loài thực vật đưa vào đối tượng nghiên cứu

2.1.1.1. Tiêu chí lựa chọn

- Những loài thực vật ước lượng có khả năng khai thác nguyên liệu (thu hái cây rừng, cây mọc hoang hoặc cây trồng).

- Được kinh nghiệm dân gian sử dụng với tác dụng kháng khuẩn.

- Ưu tiên chọn loài chưa có nghiên cứu khoa

học nào về hoạt tính kháng khuẩn hay chưa đánh giá được mức độ và liều tác dụng cũng như các chủng vi khuẩn nhạy cảm.

2.1.1.2. Kết quả lựa chọn các loài thực vật đưa vào nghiên cứu

Chọn được 18 loài thực vật đưa vào sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn trên một số chủng vi khuẩn ATCC và vi khuẩn gây bệnh thường gặp. 1 loài thực vật không có tác dụng kháng khuẩn làm đối chứng mẫu. Các loài cây được chọn gồm: Phèn đen, É dùi trống, Mào gà, Mạn kinh, Ngâu, Quỷ châm thảo, Cà gai hoa trắng, Vòi voi, Cỏ lào, Phi lao, Lục bình, Đuôi chuột, Bông ổi, Nho, Ké hoa đào, Kim phượng, Duối ô rô, Cam thảo nam và Khoai lang.

2.1.2. Các chủng vi khuẩn lựa chọn đưa vào nghiên cứu

4 chủng vi khuẩn ATCC và 4 chủng vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện thường gặp tương ứng. Các chủng vi khuẩn do Bộ môn Vi sinh - Trường ĐH Y Dược Huế cung cấp.

- Tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (*S.aureus* ATCC).

- Tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* bệnh nhân (*S.aureus* BN).

- Cầu khuẩn đường ruột *Enterococcus* ATCC 29212 (*Enterococcus* ATCC).

- Cầu khuẩn đường ruột *Enterococcus* bệnh nhân (*Enterococcus* BN).

- Trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P.aeruginosa* ATCC).

- Trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* bệnh nhân (*P.aeruginosa* BN).

- Trực khuẩn đường ruột *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E.Coli* ATCC).

- Trực khuẩn đường ruột *Escherichia coli* bệnh nhân (*E.coli* BN).

2.1.3. Kháng sinh được lựa chọn đưa vào nghiên cứu

Loại kháng sinh thông thường có phổ tác dụng rộng trên các chủng vi khuẩn thường gặp. Lựa chọn Chloramphenicol (Chl) nồng độ 25mg/ml.

2.2. Hóa chất, dụng cụ

2.2.1. Hóa chất

Ethanol 96%, nước cất, nước muối sinh lý 0,9%, Môi trường Mueller-Hinton Agar, Mueller-Hinton Broth, Các loại thuốc thử định tính....

2.2.2. Dụng cụ

Tủ sấy Memmert, máy xay, Tủ ẩm nuôi cấy vi sinh vật, máy hấp tiệt trùng, Cân điện tử hiện số phân tích Shimadzu (độ chính xác 0,0001 g), bộ chiết Soxhlec, bếp cách thủy, máy cô quay Yamato, phễu lọc, cốc thủy tinh, bình nón, bông, thước đo vòng vô khuẩn, đĩa petri, tấm bông, que cấy thông thường, pipet pasteur, đèn cồn, ống nghiệm, panh Kocher...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Các nghiên cứu về thực vật

Thu mẫu nghiên cứu có đầy đủ các bộ phận cần thiết như cành, lá, hoa, quả. Ghi chép những thông tin về các loài nghiên cứu như: mô tả hình thái, màu sắc hoa, quả, nơi phân bố và môi trường sống, tình trạng của cây, sự sinh trưởng và phát triển trong tự nhiên.

Xác định tên khoa học dựa trên phân tích hình thái thực vật, kết quả giám định được sự hỗ trợ của chuyên gia TS. Trần Văn Ôn - Bộ môn Thực vật Dược - Trường Đại học Dược Hà Nội.

2.4.2. Chiết xuất hóa thực vật

- Mẫu nguyên liệu gồm thân và lá được phơi sấy khô, nghiền thành bột mịn, bảo quản trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thích hợp.

- Chiết xuất với ethanol tuyệt đối bằng phương pháp chiết Soxhlec.

- Dịch chiết thu được, lọc, cô quay dung môi dưới áp suất giảm đến cạn khô [9].

- Cặn thu được được sử dụng để sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn.

2.4.3. Nghiên cứu về tác dụng kháng khuẩn

Xác định hoạt tính kháng khuẩn của từng loại dịch chiết theo phương pháp kháng sinh đồ trên các chủng vi khuẩn ATCC và vi khuẩn gây bệnh [5].

2.5. Định tính các nhóm chất hữu cơ

Theo phương pháp sàng lọc các nhóm hợp chất thiên nhiên có trong cây bằng các phản ứng hóa học đặc trưng [3], [4], [9].

2.5.1. Định tính Alcaloid

- Cho khoảng 5g dược liệu vào bình nón dung tích 100ml, thấm ẩm dược liệu bằng dung dịch NH_4OH 6N. Sau 30 phút, thêm chloroform ngập dược liệu, lắc, đậy kín. Ngâm 12 giờ, gạn dịch chloroform vào bình gạn, lắc kỹ với dung dịch H_2SO_4 1N, gạn lấy dịch chiết acid để làm phản ứng.

2.5.2. Định tính Anthranoid

Lấy khoảng 1g dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10ml dung dịch H_2SO_4 1N. Đun sôi trực tiếp 10 phút. Để nguội, lọc. Thêm ether vào dịch lọc, lắc nhẹ. Gạn bỏ lớp nước, lớp ether làm phản ứng Bortraeger.

2.5.3. Định tính Acid hữu cơ

Cho bột dược liệu vào ống nghiệm, thêm nước cất, đun sôi trong vài phút, để nguội, lọc. Thêm vào dịch lọc một ít bột Na_2CO_3 thấy có bọt khí CO_2 .

2.5.4. Định tính Coumarin

- Chiết xuất coumarin bằng cồn 96°, lọc, dịch lọc để làm phản ứng.

2.5.5. Định tính Flavonoid

- Lấy khoảng 1g dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm cồn 96°, đun sôi cách thủy vài phút. Lọc nóng, dịch lọc để làm các phản ứng định tính.

2.5.6. Định tính Tanin

- Cho khoảng 1g dược liệu vào ống nghiệm, thêm 10ml nước cất, đun sôi trực tiếp vài phút. Lọc qua giấy lọc gấp nếp. Dịch lọc làm các phản ứng.

2.5.7. Định tính Saponin

- Cho 5g dược liệu vào bình nón 100ml, chiết bằng 30ml cồn 90°, lọc dịch chiết bằng giấy lọc

gấp nếp. Dịch chiết còn để làm phản ứng.

2.5.8. Định tính Glycosid tim

Cho vào bình nón dung tích 100ml khoảng 10g dược liệu, thêm 100ml cồn 25°, ngâm 24 giờ. Gạn lấy dịch chiết. Loại tạp bằng dung dịch chì axetat 30% dư. Lọc bỏ tủa, dịch lọc cho vào bình gạn và lắc kỹ 3 lần với chloroform, mỗi lần 20ml. Gạn lấy dịch chloroform cho vào cốc thủy tinh. Dịch chiết trong, không lẫn nước. Bốc hơi cách thủy đến khô. Cẩn thu được hòa tan bằng cồn 90°, dịch chiết còn để làm các phản ứng định tính glycosid tim.

2.5.9. Định tính chất béo

Nhỏ vài giọt dịch chiết lên giấy lọc, hơi nóng giấy lọc trên bếp điện, vết mờ còn lại trên giấy lọc. Phản ứng dương tính.

2.5.10. Định tính đường khử

Lấy 10ml dịch chiết cho vào bình nón 100ml, thêm 10ml thuốc thử Fehling, đun sôi 3 phút, xuất hiện kết tủa đỏ gạch.

2.5.11. Định tính Steroid:

Bằng phản ứng Libermann

2.8. Xử lý số liệu

Các số liệu thực nghiệm được xử lý thống kê theo phương pháp thống kê sinh học, sử dụng công cụ Data analysis của Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Kết quả chiết xuất cao toàn phần

STT	Tên loài	Bột Dược liệu thô (g)	Cặn khô (g)	Màu sắc cặn
1	Phèn đen	1000	80,50	Nâu đỏ
2	É dùi trống	1000	87,55	Nâu đen
3	Mào gà trắng	1000	95,90	Nâu đỏ
4	Mạn kinh	1000	95,30	Xanh đen
5	Ngâu	1000	79,75	Nâu
6	Quỉ châm thảo	1000	78,50	Nâu đen
7	Cà gai hoa trắng	1000	87,15	Nâu đen
8	Vòi voi	1000	107,50	Xanh lá
9	Cỏ lào	1000	90,70	Nâu đỏ
10	Phi lao	1000	125,90	Nâu đen
11	Bèo lục bình	1000	73,85	Nâu đen
12	Đuôi chuột	1000	106,90	Nâu đen
13	Bông ổi	1000	94,05	Nâu đỏ
14	Nho	1000	74,40	Nâu đỏ

15	Ké hoa đào	1000	75,30	Xanh lá
16	Kim phượng	1000	68,50	Nâu đỏ
17	Cam thảo nam	1000	56,75	Nâu
18	Duối ô rô	1000	68,75	Xanh lá
19	Khoai lang	1000	137,35	Nâu đỏ

Từ thân và lá dược liệu thô, chiết xuất thành cao toàn phần bằng phương pháp Soxhlet (chiết xuất với ethanol tuyệt đối), dịch chiết thu được, lọc, cất thu hồi triệt để dung môi dưới áp suất giảm đến cạn khô. Cặn thu được sử dụng để sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn. Từ 1000g dược liệu thô, chiết xuất trung bình đạt từ 60-140g cặn thô, tùy theo loại dược liệu mà cặn khô có màu sắc khác nhau, chủ yếu là màu nâu đỏ và nâu đen.

Bảng 3.2. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết trên các loài vi khuẩn *S.aureus*, *E.coli*, *Enterococcus* và *P. aeruginosa*

TT	Chủng Vk Mẫu cây	Mức độ hoạt tính kháng khuẩn							
		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>Enterococcus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		ATCC	BN	ATCC	BN	ATCC	BN	ATCC	BN
1	Phèn đen	+++	+++	+	+	+++	++	++	+++
2	Ế dùi trống	++	++	0	0	+	++	+	+
3	Mào gà	0	+	0	0	+	+	+	+
4	Mạn kinh	++	++	+	+	0	0	0	0
5	Ngâu	+	+	0	+	++	++	0	0
6	Quĩ châm thảo	++	+	0	+	++	++	+	+
7	Cà gai	+	+	0	0	+	0	0	0
8	Vòi voi	+	+	0	0	+	+	+	+
9	Cỏ lào	+++	++	+	+	+++	+++	+	+
10	Phi lao	++	++	+	++	++	++	++	++
11	Lục bình	++	++	0	0	++	++	0	0
12	Đuôi chuột	++	++	+	+	+	+	0	0
13	Bông ổi	++	++	+	0	+	0	0	0
14	Nho	++	+++	+	+	++	++	++	++
15	Ké hoa đào	++	++	+	+	++	++	0	0
16	Kim phượng	+++	+++	+	+	++	+++	++	++
17	Cam thảo nam	+	+	+	0	+	+	+	+
18	Duối ô rô	+	+	0	0	+	+	+	0
19	Khoai lang	0	0	0	0	0	0	0	0
20	Chl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++

+: >8-15mm; ++: >15-22mm; +++: >22mm; BN: Bệnh nhân

Các loại dược liệu đều có hoạt tính kháng khuẩn ở những mức độ khác nhau và với các loài vi khuẩn khác nhau. Có loại có hoạt tính kháng khuẩn mạnh trên nhiều loài vi khuẩn, có loài có hoạt tính kháng khuẩn yếu và chỉ tác dụng trên một hai loài vi khuẩn.

Có 6 loại dược liệu có hoạt tính kháng khuẩn mạnh được đánh giá mức độ kháng khuẩn ở trên là Cỏ lào, Phèn đen, Nho núi, Phi lao, Ké hoa đào, Kim phượng được đưa vào định tính các nhóm chất hữu cơ có trong dược liệu.

Bảng 3.3. Tóm tắt kết quả định tính các nhóm chất hữu cơ trong 6 mẫu cây có hoạt tính kháng khuẩn tốt

Mẫu cây Nhóm Chất	Phèn đen	Cỏ lào	Phi lao	Nho núi	Ké hoa đào	Kim phượng
Alcaloid	+	+	-	-	-	-
Anthranoid	+	+	+	-	+	+
Acid hữu cơ	+	-	+	+	-	+
Coumarin	+	+	-	+	+	+
Flavonoid	+	-	+	+	+	+
Glycosid tim	+	-	+	-	-	-
Saponin	-	-	-	-	+	+
Tanin	+	-	+	+	+	+
Chất béo	+	+	+	+	+	+
Đường khử	+	+	+	+	+	+
Steroid	+	-	+	-	-	-

Qua các phản ứng định tính đặc trưng của một số nhóm chất tự nhiên, xác định được các nhóm hợp chất liên quan đến tính kháng khuẩn có trong 6 mẫu dược liệu thử nghiệm gồm:

- Phèn đen *Phyllanthus reticulatus* Poir có chứa Alcaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim và tanin.
- Cỏ lào *Chromolaena odorata* (L) R.M.King & H.Bob có chứa alcaloid và coumarin.
- Phi lao *Casuarina equisetifolia* J.R et G. Forst có chứa flavonoid, glycosid tim và tanin
- Nho núi *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv có chứa coumarin, flavonoid và tanin.
- Ké hoa đào *Urena lobata* L có chứa coumarin, flavonoid, saponin và tanin.
- Kim phượng *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw có chứa coumarin, flavonoid, saponin và tanin.

Nhiều nhóm chất hữu cơ có mặt trong dược liệu tham gia vào hoạt tính kháng khuẩn như các alcaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim, saponin, tanin... Có loại dược liệu có đủ các hoạt chất này, nhưng cũng có loại chỉ chứa một số ít các hoạt chất có tính kháng khuẩn.

4. BÀN LUẬN

4.1. Nghiên cứu về thực vật và hoạt tính kháng khuẩn

Trong thiên nhiên, có rất nhiều cây cỏ có chứa chất kháng sinh. Nguồn dược liệu của nước ta vô cùng phong phú, trong đó có nhiều cây thuốc được Y học dân tộc dùng làm thuốc kháng sinh [10]. Trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế, với điều kiện khí hậu nóng ẩm và địa hình có nhiều rừng núi, các loại thảo dược rất phong phú, được sử dụng nhiều trong dân gian [2], [11]. Nhiều loại thuốc đã và đang được nhân dân cũng như lương y sử dụng trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn, nhiễm virus. Chúng tôi lựa chọn một số loại cây có khả năng khai thác, có thể tạo nên một nguồn nguyên liệu dồi dào, rẻ tiền và ứng dụng tại địa phương để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn. Các kết quả đạt được sẽ cung cấp thêm dữ liệu tạo cơ sở khoa học và triển vọng cho việc ứng dụng các loài cây này vào làm thuốc phòng và chữa bệnh cho người. Những loài cây cụ thể là: Phèn đen, É dùi trống, Mào gà, Mạn kinh, Ngâu, Quý châm thảo, Cà gai hoa trắng, Vòi voi, Cỏ lào, Phi lao, Lục bình, Đuôi chuột, Bông ổi, Nho núi, Ké hoa đào, Kim phượng, Duối ô rô, Cam thảo nam đã được lựa chọn. Ngoài ra trong

nghiên cứu này chúng tôi đã chọn Khoai lang làm mẫu đối chứng bởi vì đây là nguyên liệu đã được biết là không có hoạt tính kháng khuẩn. Việc sử dụng Khoai lang trong thử nghiệm góp phần kiểm chứng tính chính xác của mô hình thí nghiệm.

Phân thu mẫu nghiên cứu, chúng tôi tiến hành đúng theo phương pháp nghiên cứu về thực vật [7]. Mỗi mẫu lấy đầy đủ các bộ phận gồm cành, lá, hoa, quả và ghi chép những thông tin như hình thái, màu sắc hoa, quả, nơi phân bố, môi trường sống... Ngoài ra còn chụp ảnh và làm tiêu bản khô sau khi thu mẫu. Các thông tin thu được là cơ sở đầy đủ để xác định tên khoa học của mẫu nghiên cứu. Mẫu dược liệu khô dùng trong nghiên cứu là thân và lá.

Quá trình sàng lọc được thực hiện trên 19 loài cây có đặc điểm, tính chất và thành phần hóa học khác nhau. Những hiểu biết về cách sử dụng của các loài này còn chung chung, chủ yếu là theo kinh nghiệm dân gian. Tổng quan tài liệu cho thấy có rất ít nghiên cứu khoa học chứng minh tác dụng kháng khuẩn và chỉ ra thành phần có tác dụng của chúng. Vì vậy, chúng tôi sử dụng phương pháp chiết Soxhlet trong ethanol tuyệt đối với các mẫu bột dược liệu khô. Đây là phương pháp chung nhất trong chiết xuất dược liệu, có khả năng chiết kiệt hoạt chất với hiệu suất cao [3]. Dịch chiết thu được, lọc, cất thu hồi triệt để dung môi dưới áp suất giảm đến cạn khô. Cặn thu được được sử dụng để sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn. Từ 1000g dược liệu thô, chiết xuất trung bình đạt từ 60-140g cặn thô, tùy theo loại dược liệu mà cặn khô có màu sắc khác nhau, chủ yếu là màu nâu đỏ và nâu đen (Bảng 3.1).

Xác định hoạt tính kháng khuẩn của từng loại dịch chiết theo phương pháp kháng sinh đồ trên các chủng vi khuẩn ATCC và vi khuẩn gây bệnh. Kết quả nghiên cứu trên bảng 3.2 cho thấy, các loại dược liệu đều có hoạt tính kháng khuẩn ở những mức độ khác nhau và với các loài vi khuẩn khác nhau. Có loại có hoạt tính kháng khuẩn mạnh trên nhiều loài vi khuẩn, có loài có hoạt tính kháng khuẩn yếu và chỉ tác dụng trên một hai loài vi khuẩn. Có 6 loại dược liệu có hoạt tính kháng khuẩn mạnh được đánh giá mức độ kháng khuẩn ở trên là Cỏ lào, Phèn đen, Nho núi, Phi lao, ké hoa đào, Kim phượng được đưa vào định tính các nhóm chất hữu cơ có trong dược liệu.

4.2. Nghiên cứu định tính các nhóm chất hữu cơ

Tính kháng khuẩn là một trong những tác dụng sinh học của một số cây thuốc. Tác dụng này có liên quan chặt chẽ với các hợp chất quan trọng như: saponin, tanin, flavonoid, coumarin [13]. Nó được hình thành như là phản ứng tự vệ đối với các vết thương do vi khuẩn gây bệnh tạo nên. Trên cơ sở nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn, chúng tôi chọn 6 dược liệu có vòng vô khuẩn lớn đem phân tích định tính các hợp chất hữu cơ có trong thực vật và xác định được các nhóm hợp chất liên quan đến tính kháng khuẩn có trong mẫu dược liệu thử nghiệm gồm (Bảng 3.3):

- Alcaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim và tanin trong cây Phèn đen.
- Alcaloid và coumarin trong cây Cỏ lào.
- Flavonoid, glycosid tim và tanin trong cây Phi lao.
- Coumarin, flavonoid và tanin trong cây Nho núi.
- Coumarin, flavonoid, saponin và tanin trong cây Ké hoa đào.
- Coumarin, flavonoid, saponin và tanin trong cây Kim phượng.

Như vậy, chúng ta thấy nhiều nhóm chất hữu cơ có mặt trong dược liệu tham gia vào hoạt tính kháng khuẩn như các alcaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim, saponin, tanin... Có loại dược liệu có đủ các hoạt chất này, nhưng cũng có loại chỉ chứa một số ít các hoạt chất có tính kháng khuẩn. Từ kết quả định tính cho thấy rằng trong những dược liệu đã đưa vào khảo sát hoạt tính có chứa nhiều hợp chất liên quan đến khả năng kháng khuẩn, điều đó chứng tỏ khả năng kháng khuẩn của các dược liệu này là có cơ sở khoa học.

Các cây lựa chọn đưa vào nghiên cứu đều là những cây có khả năng khai thác nguyên liệu. Nếu được đưa vào sử dụng làm thuốc thì không hề gặp khó khăn về nguồn dược liệu, hoàn toàn phù hợp với việc nghiên cứu phát triển thuốc từ dược liệu với hiệu quả cao, an toàn, giá thành rẻ, hợp với xu thế phát triển chung trong việc tìm kiếm nguồn dược liệu làm thuốc. Chúng tôi hi vọng nghiên cứu của đề tài sẽ góp phần vào công cuộc phát triển thuốc từ tự nhiên nói chung và thuốc kháng khuẩn từ dược liệu nói riêng.

5. KẾT LUẬN

- Lựa chọn một số loại cây có khả năng khai thác, có thể tạo nên một nguồn nguyên liệu dồi dào, rẻ tiền và ứng dụng tại địa phương để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, cụ thể là: Phèn đen, É dùi trống, Mào gà, Mạn kinh, Ngâu, Quỷ châm thảo, Cà gai hoa trắng, Vòi voi, Cỏ lào, Phi lao, Lục bình, Đuôi chuột, Bông ổi, Nho núi, Ké hoa đào, Kim phượng, Duối ô rô, Cam thảo nam. Trong đó

có 6 loài thực vật có hoạt tính kháng khuẩn cao là Phèn đen, Cỏ lào, Phi lao, Nho núi, Ké hoa đào, Kim phượng.

- Nhiều nhóm chất hữu cơ có mặt trong 6 loại dược liệu tham gia vào hoạt tính kháng khuẩn như các alcaloid, coumarin, flavonoid, glycosid tim, saponin, tanin... Có loại dược liệu có đủ các hoạt chất này, nhưng cũng có loại chỉ chứa một số ít các hoạt chất có tính kháng khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập I, Nxb Khoa học và kỹ thuật.
2. Bộ Khoa học Công nghệ (2001), Quy hoạch phát triển sản xuất nông lâm nghiệp gắn với ổn định dân cư vùng ngập lũ hai tỉnh Quảng Trị và Thừa Thiên Huế, Học Viện Quy hoạch và thiết kế Nông nghiệp.
3. Bộ môn Dược liệu (2007), Bài giảng dược liệu, tập I, Trường Đại học Dược Hà Nội, Nxb Y học.
4. Bộ môn Dược liệu (2007), Bài giảng dược liệu, tập II, Trường Đại học Dược Hà Nội, Nxb Y học.
5. Bộ môn Vi sinh (2011), Giáo trình vi sinh vật học, Trường Đại học Y Dược Huế.
6. Dương Văn Cầu (2009), “Những bài thuốc Nam dân gian đơn giản dễ tìm khỏi bệnh”, Khoa học và Công nghệ Bắc Giang, (3), tr. 39-41.
7. Hoàng Chung (2001), Các phương pháp nghiên cứu quần xã thực vật, Nxb Giáo dục.
8. Phan Văn Dân (2009), Nghiên cứu thành phần hóa học có trong cây phèn đen, Luận văn thạc sĩ khoa học hóa học, Đại học Thái Nguyên.
9. Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Viết Tự (1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, Nxb Y học, Tp Hồ Chí Minh, tr. 243-283.
10. Liên Hồng (2004), “Ưu điểm của kháng sinh thực vật”, Tạp chí Cây thuốc quý, (25), tr. 17.
11. Nguyễn Thanh (2005), Địa chí Thừa Thiên Huế, Nxb Khoa học xã hội.
12. Trần Nhân Thắng (2009), “Kháng sinh - Tác dụng phụ và vấn đề vi khuẩn kháng kháng sinh”, Y học lâm sàng, (47), tr. 63-65.
13. Viện Dược Liệu (2006), Nghiên cứu thuốc từ thảo dược, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 67-69.
14. Gao, Y.H., Zhou, S.F (2003), “Cancer prevention and treatment by Ganoderma, a mushroom with medicinal properties”, Food Review International, (19), pp. 275–325.