

**NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN
VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HOÁ CỦA DỊCH CHIẾT
CÂY AN XOA (*HELICTERES HIRSUTA* LOUR.)**

Trần Văn Tiên, Võ Thị Mai Hương
Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Ngày nay, nghiên cứu các chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên từ thực vật đang được quan tâm của các nhà khoa học do khả năng tăng cường sức khỏe, giảm các bệnh nguy hiểm trong đó có ung thư, các bệnh tim mạch, các bệnh suy giảm hệ thần kinh và lão hóa sớm (Lại Thị Ngọc Hà và Vũ Thị Thu, 2009). Bên cạnh đó, việc sử dụng kháng sinh để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn đường ruột sẽ dẫn đến rủi ro do hiện tượng kháng thuốc (Đỗ Thị Túy Phượng, 2007). Cây An xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) còn được gọi là dó lông, thường dùng làm thuốc chữa ung nhọt; rễ làm thuốc dị đau, tiêu độc, kết lỵ, cảm cúm, đậu, sởi, sốt rét và rắn độc cắn; vỏ thân cho sợi dùng dệt bao tải (Võ Văn Chi, 2012). Các nghiên cứu gần đây, đã phân lập được một số hợp chất Lignan có tác dụng gây độc với các tế bào ung thư như Pinoresinol, Medioresinol, Syringaresinol, Boehmenan, Boehmenan H, Dihydrodiconiferyl alcohol (Chin *et al.*, 2009); Đã phân lập được một số chất: Acid 3-O-acetylbetulinic; 7,4'-di-O-methylisoscuteallarein, stigmaterol (Nguyễn Thành Triết và cộng sự 2015). Trong nghiên cứu này, thành phần sử dụng của cây An xoa là phần trên mặt đất (thân, cành, lá, hoa) với mục đích khảo sát khả năng kháng khuẩn và hoạt tính chống oxy hóa.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

An xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) được thu hái tại phường An Tây, tỉnh Thừa Thiên - Huế vào tháng 1/2017.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp xử lý mẫu:

Sau khi thu mẫu về rửa sạch, cắt nhỏ và xử lý mẫu theo hai phương pháp: Sấy khô ở nhiệt độ 40°C (M1); Phơi bóng râm kết hợp sao vàng hạ thổ theo kinh nghiệm dân gian (M2). Sau đó, đem xay thành bột thô.

- Phương pháp chiết phân đoạn (chiết rắn - lỏng và chiết lỏng - lỏng):

+ Chiết rắn - lỏng: Cho bột nguyên liệu vào trong bình thủy tinh, rót methanol tuyệt đối vào đến khi vừa ngập mẫu, ngâm ở điều kiện thường trong 5 ngày. Tiến hành chiết rút, lọc loại bỏ phần bã nguyên liệu, thu dịch lọc. Đưa dịch chiết vừa lọc được cô cạn trên nồi cách thủy cho đến khi thu được cao sệt, thu được cao toàn phần methanol (ký hiệu CP_m). Cân cao toàn phần, sử dụng 80% cao toàn phần để phân tán trong nước (20% cao còn lại tiến hành khảo sát hoạt tính sinh học). Tính hiệu suất cao chiết.

+ Chiết lỏng - lỏng: Cho cao toàn phần phân tán trong nước và chiết với dung môi n-hexan có tỷ lệ 1:1 (nước cất : n-hexan), loại dung môi trên nồi cách thủy thu được cao chiết n-hexan (ký hiệu CP_h). Chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần như: chloroform, ethyl acetate, nước tương tự dung môi n-hexan thu được cao chiết tương ứng, ký hiệu CP_c, CP_e, CP_n. Tất cả các thí nghiệm lặp lại 3 lần, tính hiệu suất chiết các cao thu được ở hai phương pháp xử lý mẫu M1, M2.

- Thử hoạt tính kháng vi sinh vật theo phương pháp khuếch tán trên thạch theo tỷ lệ 1:10 (Gomez-Flores *et al.*, 2006). Các chủng vi sinh vật (VSV) kiểm định đại diện gây bệnh cho người do Trung tâm Kiểm nghiệm Dược, Mỹ phẩm - Thừa Thiên - Huế cung cấp, gồm: Vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* (*E. coli*); *Salmonella typhi* (*S. typhi*) và vi khuẩn Gram (+): *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*); *Streptococcus faecalis* (*S. faecalis*).

- Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hóa bằng DPPH (2,2 - Diphenyl - 1 - picrylhydrazyl) (Bùi Trọng Đạt và cs, 2003). Các cao chiết ở trên được pha thành các nồng độ 100; 50; 25,5; 12,5; 6,25 µg/ml trong methanol. Lấy 1,5ml cao chiết thêm 1,5ml DPPH 60µM lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút, sau đó được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm (Marinova *et al.*, 2011). Sử dụng ascorbic acid (Vit. C) làm đối chứng để tính hàm lượng chất oxy hóa tương đương.

- Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (\text{ACT-ASP})/\text{ACT}$$

Trong đó, ACT: Độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa cao chiết; ASP: Độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa cao chiết. Kết quả báo cáo bởi giá trị IC₅₀ là nồng độ của cao chiết khử được 50% gốc tự do DPPH ở điều kiện xác định. Các cao chiết có hoạt tính chống oxy hóa mạnh (IC₅₀ < 100 µg/ml) và giá trị IC₅₀ càng thấp hoạt tính khử gốc tự do DPPH càng cao.

- Các số liệu thực nghiệm được xử lý thống kê bằng chương trình MS-Excel 2010 và SPSS 16.0. Trung bình mẫu ± sai số chuẩn.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Hàm lượng các cao chiết cây An xoa (*Helicteres hirsuta* L.)

Kết quả ở bảng 1 cho thấy việc xử lý mẫu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết. Hiệu suất chiết ở phương pháp xử lý mẫu sấy khô (M1) từ 0,22 - 9,96%, phương pháp xử lý mẫu sao vàng hạ thổ (M2) từ 0,14 - 6,81%. Hiệu suất chiết các cao M1 luôn cao hơn so với các cao M2.

Bảng 1

Hàm lượng các cao chiết từ cây An xoa

Cao chiết	M1		M2	
	Khối lượng (g/1500 g mẫu)	Hiệu suất chiết trung bình (%)	Khối lượng (g/1500 g mẫu)	Hiệu suất chiết trung bình (%)
CP _m	149,48 ± 0,51	9,96	102,26 ± 1,86	6,81
CP _h	39,85 ± 0,80	2,66	25,69 ± 0,43	1,71
CP _c	15,81 ± 0,50	1,05	11,83 ± 0,55	0,79
CP _e	3,25 ± 0,17	0,22	2,12 ± 0,26	0,14
CP _n	68,61 ± 1,11	4,57	51,04 ± 1,27	3,40

2. Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết cây An xoa (*Helicteres hirsuta* L.)

Tính kháng khuẩn là một trong những tác dụng sinh học được quan tâm của các cây dược liệu. Tác dụng này có liên quan chặt chẽ với các hợp chất quan trọng như: saponin, tanin, flavonoid,... Nghiên cứu đã cho thấy các cao chiết cây An xoa đều có khả năng kháng với 4 loại vi sinh vật kiểm định. Kết quả được trình bày ở bảng 2 và bảng 3.

Hoạt tính kháng khuẩn đối với các VSV gây bệnh của các cao chiết như sau:

Các cao chiết ở phương pháp xử lý mẫu sậy khô kháng mạnh (M1) đối với 4 VSV kiểm định. Hiệu số vòng vô khuẩn ở vi khuẩn *E. coli* đạt từ 14,35 – 19,24 mm, ở vi khuẩn *S. typhi* đạt từ 20,35 – 25,05 mm, ở vi khuẩn *S. aureus* đạt từ 14,35 – 21,35 mm còn đối với *S. faecalis* đạt từ 17,34 – 20,65 mm. Trong các cao chiết, cao chiết CP_m kháng khuẩn mạnh và khá đều trên cả 4 chủng VSV, đối với *S. typhi* hiệu số vòng vô khuẩn đạt đến 25,05 mm.

Bảng 2

Hoạt tính kháng khuẩn các cao chiết M1

Cao chiết	Hiệu số vòng vô khuẩn đối với các vi sinh vật kiểm định D-d (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>
M1.CP _m	18,22±0,42	25,05±0,78	21,35±0,22	19,50±0,33
M1.CP _h	14,60±0,32	20,35±0,25	14,35±0,22	20,65±1,22
M1.CP _c	17,35±0,45	20,88±0,22	15,45±0,91	19,56±0,22
M1.CP _e	18,35±0,34	22,35±0,02	16,55±0,57	17,34±0,44
M1.CP _n	19,24±0,57	24,22±0,23	15,56±0,33	17,34±0,45

Các cao chiết ở phương pháp xử lý mẫu sậy vàng hạ thổ (M2) kháng mạnh đối với 4 VSV kiểm định. Hiệu số vòng vô khuẩn ở vi khuẩn *E. coli* đạt từ 12,35 – 18,25 mm, ở vi khuẩn *S. typhi* đạt từ 19,68 – 23,90 mm, ở vi khuẩn *S. aureus* đạt từ 14,50 – 20,38 mm còn đối với *S. faecalis* đạt từ 16,77 – 18,65 mm.

Bảng 3

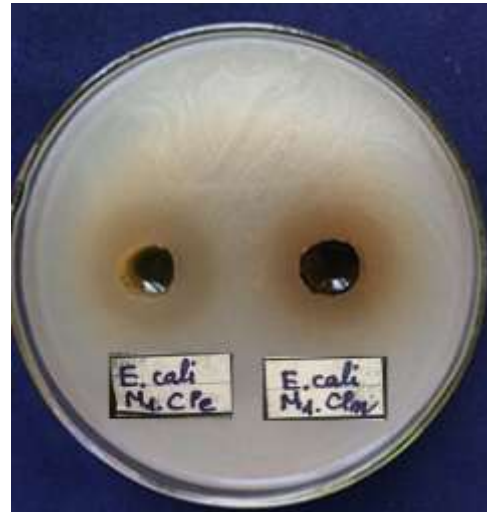
Hoạt tính kháng khuẩn các cao chiết M2

Cao chiết	Hiệu số vòng vô khuẩn đối với các vi sinh vật kiểm định D-d (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>
M2.CP _m	17,55±0,20	23,90±0,35	20,38±0,09	18,65±0,45
M2.CP _h	12,35±0,02	19,68±0,55	14,50±0,21	21,25±0,22
M2.CP _c	16,55±0,43	21,22±0,77	15,35±0,23	18,25±0,25
M2.CP _e	17,35±0,33	21,18±0,55	16,43±0,33	16,77±0,56
M2.CP _n	18,25±0,23	22,31±1,05	17,33±0,56	18,33±0,22

Nhìn chung hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết ở hai phương pháp xử lý mẫu là khá cao và khác nhau đối với các chủng vi khuẩn nghiên cứu. Kết quả này là cơ sở ban đầu cho những nghiên cứu ứng dụng cây An xoa trong việc chữa một số bệnh liên quan đến các vi khuẩn gây bệnh.



Hình 1: Vòng vô khuẩn cao chiết M1.CP_n và M2.CP_n ở *Staphylococcus aureus*



Hình 2: Vòng vô khuẩn cao chiết M1.CP_c và M1.CP_n ở *Escherichia coli*



Hình 3: Vòng vô khuẩn cao chiết M1.CP_c và M1.CP_n ở *Streptococcus faecalis*



Hình 4: Vòng vô khuẩn cao chiết M2.CP_m và M2.CP_c ở *Salmonella typhi*

3. Hoạt tính chống oxy hóa các cao chiết từ cây An xoa (*Helicteres hirsuta* L.)

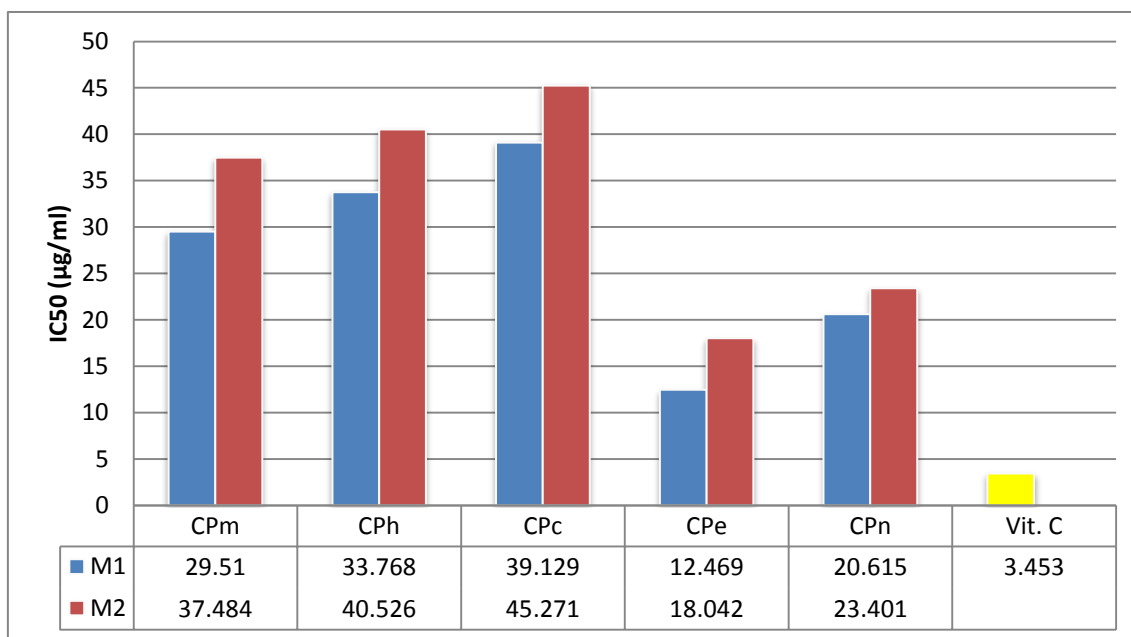
Chất chống oxy hóa là một chất hoặc một nhóm hợp chất có ngăn ngừa và loại bỏ tác dụng độc hại của các gốc tự do một cách trực tiếp hoặc gián tiếp. Chất chống oxy hóa có thể trực tiếp phản ứng với các gốc tự do hoạt động để tạo ra những gốc tự do mới kém hoạt động hơn, từ đó có thể ngăn cản chuỗi phản ứng dây chuyền được khơi mào bởi các gốc tự do.

Kết quả kháng oxy hóa của các cao chiết ở hai phương pháp xử lý mẫu được trình bày trong hình 5. cho thấy, hiệu suất kháng oxy hóa của các cao chiết cây An xoa tỉ lệ thuận với nồng độ cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các nồng độ khảo sát. So sánh với đối chứng vit.C phương trình đường chuẩn ($y = 0,466x + 48,391$; $IC_{50} = 3,453$; $R^2 = 0,991$).

Hoạt tính chống oxy hóa các cao chiết được đánh giá dựa trên giá trị IC_{50} cụ thể như sau:

Các cao chiết ở phương pháp xử lý mẫu sấy khô (M1): cao chiết CP_e có hoạt tính oxy hóa cao nhất với giá trị IC₅₀ là 12,469 (gấp 3,61 lần so với đối chứng vit. C); cao chiết CP_c có hoạt tính oxy hóa thấp nhất với giá trị IC₅₀ là 39,129 (gấp 11,33 lần so với đối chứng vit. C).

Các cao chiết ở phương pháp xử lý mẫu sao vàng hạ thổ (M2): cao chiết CP_e có hoạt tính oxy hóa cao nhất với giá trị IC₅₀ là 18,042 (gấp 5,23 lần so với đối chứng vit. C); cao chiết CP_c có hoạt tính oxy hóa thấp nhất với giá trị IC₅₀ là 45,271 (gấp 13,11 lần so với đối chứng vit. C).



Hình 5: Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ cây An xoa

Kết quả phân tích cho thấy, quá trình xử lý mẫu có ảnh hưởng tới hoạt tính chống oxy hóa. Từ hai phương pháp xử lý mẫu ban đầu, M1 luôn có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn M2 ở các cao chiết tương ứng.

III. KẾT LUẬN

1. Hàm lượng các cao chiết An xoa ở các dung môi khác nhau:

- Ở phương pháp xử lý mẫu sấy khô (M1): Các cao chiết methanol (CP_m), n-Hexan (CP_h), chloroform (CP_c), ethylacetat (CP_e) và cao nước (CP_n) có hiệu suất chiết lần lượt là 9,96%; 2,66%; 1,05%; 0,22%; 4,57%.

- Ở phương pháp xử lý mẫu sao vàng hạ thổ (M2): Các cao chiết CP_m, CP_h, CP_c, CP_e, CP_n có hiệu suất chiết lần lượt là 6,81%; 2,71%; 0,79%; 0,14%; 3,40%.

2. Các cao chiết CF_m, CF_h, CP_c, CF_e, CF_n ở hai phương pháp xử lý mẫu đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với các loại vi sinh vật kiểm định. Trong đó đáng chú ý là loại VSV kiểm định *Salmonella typhi* là nhạy cảm nhất đối với tất cả các cao chiết.

3. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết cây An xoa ở hai phương pháp xử lý mẫu có hoạt tính chống oxy hóa mạnh khá mạnh (IC₅₀ < 100 µg/ml). Cao chiết CP_e có hoạt tính oxy hóa cao nhất với giá trị IC₅₀ là 12,469 (µg/ml) ở M1 và thấp nhất là cao chiết CP_c với giá trị 45,271 (µg/ml) ở M2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Võ Văn Chi**, 2012. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, 2: tr. 1010-1013.
2. **Bùi Trọng Đạt, Phùng Văn Trung, Phan Nhật Minh, Hoàng Thị Ngọc Dung và Phạm Cao Thanh Tùng**, 2003. Xây dựng quy trình thử hoạt tính kháng oxy hóa DPPH và sàng lọc một số cao chiết từ cây cỏ Việt Nam, *Tuyển tập công trình nghiên cứu Khoa học và Công nghệ*, tr.150-155.
3. **Gomez-Flores R., P. Tamez-Guerra, C. Rodriguez-Padilla, E. Monreal Cuevas**, 2006. *Journal of Infectious Diseases*, 1: 1-8
4. **Lại Thị Ngọc Hà và Vũ Thị Thu**, 2009. Stress oxy hóa và các chất kháng oxy hóa tự nhiên, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tr.667-677.
5. **Marinova G. and V. Batchvarov**, 2011. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH, *Institute of Cryobiology and Food Technologies, Bulg. J. Agric. Sci.*, (17), pp. 11-24
6. **Nguyễn Kim Phi Phụng**, 2000. *Các phương pháp nhận danh; trích ly cô lập các hợp chất hữu cơ*. Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên.
7. **Đỗ Thị Túy Phương**, 2007. Xây dựng quy trình kỹ thuật tách chiết, khảo sát tính kháng khuẩn và khả năng chống oxy hóa của một số hợp chất thứ cấp từ lá cây Xuân Hoa (*Pseuderanthemum palatiferum*). *Khóa luận tốt nghiệp*. Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.
8. **Nguyễn Thành Triết, Nguyễn Minh Thùy, Đồng Quỳnh Như, Nguyễn Thị Ái Thuận, Trần Công Luận**, 2015. “Khảo sát đặc điểm vi học và thành phần hóa học trong phân đoạn diethyl ether của cây An xoa (*Helicteres hirsuta* Lour)”, *Kỷ yếu Hội thảo khoa học Trường Đại học Tây Đô*, tr 40-50.
9. **Young-Won Chin, William P. Jones, Ismail Rachman, Soedarsono Riswan, Leonardus B.S. Kardono, Hee-Byung Chai, Norman R. Farnsworth, Geoffrey A. Cordell, Steven M. Swanson, John M. Cassidy, A. Douglas Kinghorn**, 2006. “Cytotoxic lignans from the stems of *Helicteres hirsuta* collected in Indonesia”, *Phytotherapy Research*, (20), pp. 62 - 65”

STUDY ON ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF EXTRACT OF *HELICTERES HIRSUTA* LOUR.

Tran Van Tien, Vo Thi Mai Huong

SUMMARY

An Xoa tree is the vietnamese name of *Helicteres hirsuta* Lour (Merr.). This paper presents results of study on extraction yields of materials of *Helicteres hirsuta* being dried (M1) and *Helicteres hirsuta* being roasted brown and cooled down under the ground (M2) in different solvents. The results showed that the extraction performances of M1 were higher than that of M2 in the corresponding solvents. Extraction performances of M1 in methanol (CP_m), n-Hexane (CP_h), chloroform (CP_c), ethylacetat (CP_e) and water (CP_n) were 6.81%; 2.71%; 0.79%; 0.14%; 3.40% respectively. All extracts of CP_m, CP_h, CP_c, CP_e and CP_n from M1 and M2 showed good results in terms of antibacterial and antioxidant activities. *Salmonella typhi* was the most sensitive species to all extracts. The ethyl acetate fraction exhibited activity in DPPH the best compared to the other fractions in this research. IC₅₀ for antioxidant activity of CP_e from M1 was 12.469 µg/ml, while the standard compound, ascorbic acid, had IC₅₀ of 3.453 µg/ml.