

## Nghiên cứu

DOI: 10.59715/pntjimp.3.3.6

# Khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng khuẩn từ cao chiết lá cây thạch vĩ (*Pyrrrosia lingua* (Thunb.) Farwell)

Phạm Ngọc Khôi<sup>1,2</sup>, Võ Tấn Khang<sup>2,3</sup>, Trần Tiến Tài<sup>3</sup>, Phạm Đức Vũ<sup>3</sup>, Võ Đức Trí Dũng<sup>3</sup>, Trần Sĩ Nguyên<sup>4</sup>, Nguyễn Phan Phương Nhi<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Lê<sup>5</sup>, Bùi Thế Vinh<sup>6</sup>, Nguyễn Thị Thu Hương<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Mô Phôi - Di truyền, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Văn phòng Khoa, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Bộ môn Sinh lý - Sinh lý bệnh - Miễn dịch, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>4</sup>Bộ môn Vi sinh Y học, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>5</sup>Khoa Dược, Bệnh viện Quận Phú Nhuận, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>6</sup>Bộ môn Vật lý - Hóa phân tích - Kiểm nghiệm, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>7</sup>Bộ môn Dược lý - Dược lâm sàng, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, Thành phố Hồ Chí Minh

## Tóm tắt

Lá cây thạch vĩ (*Pyrrrosia lingua* (Thunb.) Farwell) được biết đến như là một loại thảo dược có tác dụng điều trị tiểu tiện khó khăn, mụn nhọt sang lở, vết thương do bỏng. Trong bối cảnh Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về lá cây thạch vĩ, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng khuẩn từ cao chiết lá cây thạch vĩ. Lá cây thạch vĩ được tách chiết bằng phương pháp ngâm kiệt để thu được dịch chiết ethanol 70%, dịch chiết được cô thành cao chiết sau đó. Sử dụng cao chiết này để xác định hàm lượng polyphenol tổng và hàm lượng flavonoid toàn phần. Sau đó tiếp tục khảo sát hoạt tính kháng khuẩn từ cao chiết ethanol 70%. Cao chiết được xác định có hàm lượng polyphenol tổng (20,79 mg GAE trong 1 g cao chiết) và hàm lượng flavonoid toàn phần (11,05 mg quercetin trong 1 g cao chiết). Cao chiết có khả năng kháng lại một số chủng vi khuẩn như *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* với nồng độ ức chế tối thiểu là 50 mg/ml. Nghiên cứu này đã khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ. Điều này giúp bổ sung tiềm năng hỗ trợ điều trị bệnh nhiễm khuẩn từ lá cây thạch vĩ, từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính sinh học khác của lá cây thạch vĩ.

**Từ khóa:** Lá cây thạch vĩ (*Pyrrrosia lingua* (Thunb.) Farwell), polyphenol, flavonoid, kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu.

Ngày nhận bài:

21/02/2024

Ngày phân biện:

06/5/2024

Ngày đăng bài:

20/7/2024

Tác giả liên hệ:

Phạm Ngọc Khôi

Email:

pnhkoi@pnt.edu.vn

ĐT: 0909 097 802

## Abstract

**A study on the concentration of polyphenols, flavonoids and antibacterial activity from tongue fern (*Pyrrrosia lingua* (Thunb.) Farwell)**

Tongue fern (*Pyrrrosia lingua* (Thunb.) Farwell) leaves are known as an herb that is effective in treating difficulty urinating, ulcers, and burn wounds. In Vietnam, there are still not many studies on tongue fern leaves. This research was carried out to investigate the concentration of polyphenols, flavonoids and antibacterial activity from tongue fern leaves

extract. The leaves of tongue fern are extracted by the maceration method to obtain a 70% ethanol extract, the extract is concentrated. Use the extract to determine total polyphenol concentration and total flavonoid concentration. Then continue to investigate antibacterial activity from the 70% ethanol extract. The extract was determined to have total polyphenol concentration (20.79 mg GAE in 1 g of extract) and total flavonoid concentration (11.05 mg quercetin in 1 g of extract). The extract is capable of resisting some bacterial strains such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* with a minimum inhibitory concentration of 50 mg/ml. This study investigated the concentration of polyphenols, flavonoids and antibacterial activity of 70% ethanol extract from tongue fern leaves. This helps add to the potential to support infectious disease treatment from tongue fern leaves, thereby serving as a basis for further research on other biological activities of tongue fern leaves.

**Keyword:** Tongue fern (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell), polyphenol, flavonoid, antibacterial, minimum inhibitory concentration (MIC).

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng sinh thực vật (phytoncides) là các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi có khả năng kháng khuẩn có nguồn gốc từ thực vật. Kháng sinh thực vật đóng một vai trò quan trọng trong khả năng miễn dịch của thực vật và trong mối quan hệ giữa các sinh vật trong hệ sinh thái. Khả năng sản xuất kháng sinh thực vật khác nhau giữa các loại thực vật khác nhau và thành phần của hợp chất kháng sinh thực vật cũng khác nhau có thể là glycoside, terpenoid, đôi khi là các chất chuyển hóa thứ cấp khác [1]. Do đặc tính kháng khuẩn của kháng sinh thực vật, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để điều tra tiềm năng sử dụng của chúng trong đời sống như một chất bảo vệ thực vật trong nhà kính, cũng như một chất bảo quản trong việc vận chuyển và lưu trữ những đồ dễ hỏng như trái cây và rau quả. Trong y học, một kháng sinh thực vật dễ bay hơi như sophoraflavanone G được đặc biệt quan tâm do có khả năng sử dụng chống lại vi khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) và vi khuẩn *Enterococcus* kháng vancomycin [2].

Cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell), một thành viên của họ Polypodiaceae [3], đã được sử dụng rộng rãi như một loại thuốc truyền thống để điều trị đau, chảy máu âm đạo và sỏi tiết niệu ở Trung Quốc và Hàn Quốc [4]. Cây thạch vĩ là một loại cây phổ biến và chứa các thành phần hoạt tính như acid chlorogenic, mangiferin, isomangiferin, kaempferol và rutin [5, 6]. Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo rằng cây thạch vĩ có một số tác dụng dược lý

bao gồm các hoạt động chống virus, chống vi khuẩn, chống stress oxy hóa và chống cảm giác đau [7 - 10].

Hiện nay ở Việt Nam chưa có nhiều công trình nghiên cứu về loại cây này, vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu với hai mục tiêu chính là khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng khuẩn từ cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell) sau khi thu mẫu được đem về Phòng Dược liệu và định danh bằng phương pháp mô tả hình thái thực vật trong “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam” của Đỗ Tất Lợi (2004) [3] như sau: cây thạch vĩ là thuộc loại dương xỉ có thân rễ nằm ngang dài 0,5 m và dày khoảng 4 mm, có nhiều nhánh; trên thân rễ có nhiều vẩy to, ở mặt dưới từng quãng có nhiều rễ hình sợi, cuống dài khoảng 2 - 10 cm, mảnh, có đốt ở gốc, phiến hơi đa dạng, tròn dài, nhỏ hay hẹp thon dài 8 - 18 cm, rộng 2 - 5 cm, dai, mặt trên gần như không lông, mặt dưới có lông hình sao vàng hoe, ổ túi bào tử phủ tròn mặt dưới, màu đỏ đậm, bào tử xoan, nâu nhạt; lá có hai loại là lá bất thụ và hữu thụ, lá hữu thụ có cuống dài tới 9 cm, phiến lá hình lưỡi mác rộng, dài 11 - 13 cm, rộng 2 - 3 cm, mặt trên nhẵn màu xanh lục, mặt dưới màu nâu nhạt có ổ tử nang phủ khắp trừ trên gân giữa của lá cây thạch vĩ, khi nhìn qua kính hiển vi quang học ta sẽ thấy ổ

tử nang cầu tạo bởi một đám tử nang phân cách nhau bởi những lông hình sao có cuống dài, các lá bất thụ có cuống ngắn hơn, độ 5 cm, với phiến lá hình trái xoan hơi hình mác, dài khoảng 9 - 11 cm, rộng 3 - 4 cm, mặt trên màu lục nhạt, mặt dưới màu lục nâu, gân lá hình lông chim, cả hai mặt đều nhẵn. Các chủng vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu như *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (VS 07), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) được cung cấp từ Bộ môn Vi sinh - Ký sinh, Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

## 2.2. Hóa chất nghiên cứu

**Bảng 1.** Hóa chất nghiên cứu

Tên hóa chất	Nguồn gốc xuất xứ
Ethanol 99,9%	Sigma Aldrich
Acid gallic	Sigma Aldrich
Thuốc thử Folin-Ciocalteu	Calbiochem Ltd. Co.
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Calbiochem Ltd. Co.
Methanol	Sigma Aldrich
Quercetin	Sigma Aldrich
AlCl <sub>3</sub>	Calbiochem Ltd. Co.
Môi trường tryptic soy broth	Merck
Phosphate-buffered saline	Calbiochem Ltd. Co.
Môi trường Müller-Hinton agar	Merck

## 2.3. Thiết bị nghiên cứu

**Bảng 2.** Thiết bị nghiên cứu

Tên thiết bị nghiên cứu		
Cân sấy ẩm	Nồi đun cách thủy	Lò vi sóng
Cân kỹ thuật	Nồi hấp khử trùng	Máy cô quay chân không
Cân phân tích	Tủ sấy	Máy vortex
Bếp điện	Tủ hút	Máy đo quang phổ UV-Vis

## 2.4. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện tại Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh (41 Đinh Tiên Hoàng, Phường Bến Nghé, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam) và Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch (2 Dương Quang Trung, Phường 12, Quận 10, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam).

## 2.5. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế dựa trên các thực nghiệm *in vitro* trong phòng thí nghiệm. Kiểu thu thập dữ liệu là tiến cứu. Thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần riêng biệt cho mỗi thí nghiệm. Các số liệu hoạt tính được đánh giá và so sánh với mẫu chứng.

## 2.6. Các bước tiến hành nghiên cứu

Dược liệu được xử lý dựa theo Phụ lục 1, Dược điển Việt Nam V. Sau đó chia làm ba bước tiến hành. Ở bước 1, tiến hành tách chiết nguyên liệu bằng phương pháp ngâm kiệt theo một điều kiện tách chiết (dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu với dung môi là 1 : 10 (g/ml), 48 giờ, 50 - 60 giọt/phút, cô quay 50 °C) [11]. Ở bước 2, sau khi thu được cao chiết toàn phần tách chiết từ lá cây thạch vĩ thì pha loãng thành dịch chiết toàn phần, sử dụng dịch chiết toàn phần này để khảo sát hàm lượng polyphenol tổng bằng phương pháp Folin-Ciocalteu và hàm lượng flavonoid toàn phần theo mô tả của Chang và cộng sự [11]. Ở bước 3, tiếp tục sử dụng cao chiết toàn phần trên để khảo sát giá trị nồng độ ức chế tối thiểu là nồng độ thấp nhất của mẫu thử pha loãng trong môi trường ức chế sự phát triển của mỗi loại vi khuẩn thử nghiệm [12].

## 2.7. Xử lý mẫu lá cây thạch vĩ

Mẫu lá cây thạch vĩ sau khi thu hái sẽ được làm sạch sơ bộ bằng nước và loại bỏ tạp chất, phần lá hư, rách, bị sâu mọt. Nguyên liệu sau khi làm sạch sẽ được phơi khô dưới bóng râm, tránh ánh nắng chiếu trực tiếp vì ánh sáng mặt trời có thể phá hủy một số hợp chất có sẵn. Nguyên liệu khô sau đó được xay nhỏ để tăng diện tích tiếp xúc giữa mẫu và dung môi, tạo điều kiện cho việc hòa tan các hợp chất có trong nguyên liệu (mẫu không quá to vì khó chiết, không quá mịn vì sẽ cản trở dòng chảy khi lọc) nhằm tăng hiệu suất trích ly [11].

## 2.8. Phương pháp ngâm kiệt

Bột dược liệu lá cây thạch vĩ được ủ 30 phút và nhồi vào bình ngâm kiệt, thêm dung môi sao cho bề mặt dung môi ethanol 70% luôn nằm trên dược liệu khoảng 5 cm (tỷ lệ bột dược liệu với dung môi là 1 : 10), để 48 giờ và xả vôi bình chiết với tốc độ nhỏ giọt là 50 - 60 giọt/phút, thu dịch chiết, sau đó cô quay thu hồi ethanol (nhiệt độ cô quay là 50 °C), cô cách thủy và thu được cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ. Sau đó dịch chiết được cô giảm áp để thu được cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ (độ ẩm cao đặc < 20% theo quy định của Dược điển Việt Nam V) để thực hiện các thử nghiệm tiếp theo [11].

## 2.9. Tính hiệu suất chiết cao

Hiệu suất chiết cao được tính dựa vào phương pháp cân khí so sánh khối lượng mẫu ban đầu, thể tích dịch chiết và khối lượng cao chiết thu được [11].

## 2.10. Xác định độ ẩm lá cây thạch vĩ

Sau khi sấy hoặc phơi khô rồi nghiền nhỏ nguyên liệu cần tiến hành xác định độ ẩm của nguyên liệu, từ độ ẩm có thể xác định được hàm lượng chất khô có trong mẫu nguyên liệu. Tiến

hành xác định độ ẩm của 0,5 g mẫu nguyên liệu bằng máy đo độ ẩm tự động. Cao chiết được tách chiết sau này cũng được tiến hành xác định độ ẩm tương tự như đã mô tả [11].

## 2.11. Định lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu theo Waterman và Mole (1994). Trong thành phần thuốc thử Folin-Ciocalteu có hỗn hợp phosphomolybdate và phosphotungstate hoạt động theo cơ chế phản ứng oxy hoá - khử. Khi có mặt dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  thì các phân tử polyphenol phân ly tạo thành anion phenolate phản ứng với hỗn hợp phosphomolybdate và phosphotungstate tạo nên hỗn hợp có màu xanh dương. Cường độ màu xanh dương của hỗn hợp có thể được đo lường thông qua độ hấp thụ bởi máy trắc quang với độ dài sóng 758 nm. Hàm lượng polyphenol tổng có trong mẫu tỷ lệ thuận với cường độ màu [11]. Tiến hành xây dựng chuẩn acid gallic như Bảng 3. Định lượng polyphenol tổng trong cao chiết bằng cách cân 0,25 g cao pha thành 10 ml bởi methanol, sau đó pha loãng 4 lần. Lấy 200  $\mu\text{l}$  dung dịch pha loãng thực hiện phản ứng.

**Bảng 3.** Quy trình xây dựng đường chuẩn acid gallic

Bình định mức	1	2	3	4	5	6
Hút từ dung dịch chuẩn ( $\mu\text{l}$ )	0	50	100	150	200	250
Hàm lượng acid gallic ( $\mu\text{g}$ )	0	10	20	30	40	50
Nước cất (ml)	6	6	6	6	6	6
Thuốc thử Folin-Ciocalteu (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Lắc đều, để yên 5 phút						
Dung dịch $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 20% (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Nước cất (ml)	2	1,95	1,9	1,85	1,8	1,75
Lắc đều, để yên trong tối 2 giờ sau đó quét bước sóng 758 nm						

## 2.12. Định lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo mô tả của Chang và cộng sự (2002) có hiệu chỉnh, xây dựng đường chuẩn với quercetin. Hút đồng lượng 1 ml dung dịch quercetin (hàm lượng 10 - 60  $\mu\text{g}$ ) và  $\text{AlCl}_3$  2%, để phản ứng trong 10 phút. Tiến hành xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ UV-Vis (Unicam Limited, Anh) ở độ dài sóng 415 nm.

Các mẫu cao chiết được tiến hành tương tự với quercetin, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng flavonoid toàn phần của cao chiết được biểu diễn theo miligam đương lượng quercetin trên gram cao chiết [11]. Định lượng flavonoid toàn phần trong cao chiết bằng cách cân 0,25 g cao pha thành 10 ml bởi methanol, sau đó pha loãng 20 lần. Lấy 5 ml dung dịch pha loãng thực hiện phản ứng.

### 2.13. Phương pháp xác định giá trị nồng độ ức chế tối thiểu

Phân lập các vi khuẩn trên môi trường thích hợp, ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Chuyển 3 - 5 khóm vi khuẩn được phân lập sang ống nghiệm chứa môi trường tryptic soy broth, ủ ở 37 °C trong 2 - 6 giờ đến khi có độ đục lớn hơn hay bằng chuẩn đục McFarland 0,5. Hiệu chỉnh mật độ vi khuẩn về khoảng 1 - 3.10<sup>8</sup> CFU/ml (CFU, colony-forming unit) bằng cách đo mật độ quang ở độ dài sóng 625 nm. Sau đó, pha loãng về mật độ khoảng 10<sup>7</sup> CFU/ml bằng phosphate-buffered saline vô trùng. Vi khuẩn sau khi chuẩn bị xong phải đưa vào thử nghiệm trong vòng 15 phút. Bước tiếp theo là chuẩn bị dãy pha loãng mẫu thử bằng cách cân một lượng mẫu thử vào ống nghiệm vô khuẩn, thêm một lượng môi trường Müller-Hinton agar (MHA) đun chảy thích hợp vào để đạt nồng độ của mẫu thử trong ống là 50 mg/ml (ống 1). Nếu cần, sử dụng chất diện hoạt hoặc dung môi trợ tan phù hợp sao cho nồng độ sử dụng không vượt quá 2% (kl/kl). Pha loãng mẫu thử một nửa trong ống 1 liên tiếp theo cấp số bằng môi trường MHA đun chảy. Đổ môi trường chứa mẫu thử ra các đĩa petri, để nguội cho đông đặc hoàn toàn. Chuẩn bị mẫu chứng dương chỉ chứa môi trường. Lần lượt chấm lên các đĩa thử và đĩa chứng 1 µl huyền濁 vi khuẩn đã chuẩn bị ở mục trên. Ủ các đĩa thử nghiệm ở 37 °C trong 24 giờ. Ghi nhận hiện tượng mọc của mỗi chủng vi khuẩn tại các vết chấm [12]. Xác định giá trị MIC là nồng độ thấp nhất của mẫu thử pha loãng trong môi trường ức chế sự phát triển của mỗi loại vi khuẩn thử nghiệm [13].

### 3.3. Kết quả xác định hàm lượng polyphenol tổng

**Bảng 5.** Mật độ quang của acid gallic với các nồng độ khác nhau

Hàm lượng acid gallic (µg/µl)	Mật độ quang			
	OD <sub>1</sub>	OD <sub>2</sub>	OD <sub>3</sub>	OD <sub>TBC</sub>
10	0,160	0,159	0,152	0,157
20	0,256	0,263	0,235	0,251
30	0,365	0,355	0,360	0,360
40	0,465	0,444	0,455	0,455
50	0,598	0,569	0,583	0,583

Từ Bảng 5 xây dựng được phương trình hồi quy tuyến tính của acid gallic:  $y = 0,0106x + 0,0445$  với  $R^2 = 0,997$ .

### 2.14. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần và sử dụng phần mềm thống kê SAS 8.1 để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sự sai khác có ý nghĩa của ba lần lặp lại. Kiểm định ANOVA được thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa  $p < 0,05$ .

## III. KẾT QUẢ

### 3.1. Kết quả hiệu suất chiết xuất

Hiệu suất chiết cao từ lá cây thạch vĩ ở điều kiện tách chiết đã khảo sát là 12,97% bằng cách tính tỷ số giữa khối lượng cao chiết ethanol 70% thu được và khối lượng nguyên liệu ban đầu.

### 3.2. Kết quả độ ẩm cao chiết

**Bảng 4.** Kết quả độ ẩm cao chiết

Mẫu	Độ ẩm (%)
Bột lá cây thạch vĩ	10,45
Cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ	14,09

Bằng phương pháp sử dụng máy đo độ ẩm tự động, độ ẩm mẫu dược liệu và cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ được xác định lần lượt là 10,45% và 14,09%. Dược liệu và cao chiết ethanol 70% lá cây thạch vĩ thu được sau khi cô quay ở dạng sệt và dự trữ ở 4 °C để sử dụng cho các thử nghiệm sau. Theo quy định trong Dược điển Việt Nam V thì quy định độ ẩm đạt được cho bột dược liệu ≤ 13% và quy định cho cao chiết ≤ 20%. Vậy giá trị mất khối lượng do làm khô trung bình của mẫu dược liệu là 10,45% và cao chiết dạng sệt là 14,09% của lá cây thạch vĩ đã đạt được tiêu chuẩn trên.

**Bảng 6.** Hàm lượng polyphenol tổng của cao chiết thạch vĩ

Mẫu	OD <sub>1</sub>	OD <sub>2</sub>	OD <sub>3</sub>	Hàm lượng phenolic tổng trong 1 g cao chiết (mg GAE/g)
Cao chiết thạch vĩ	0,301	0,304	0,355	20,79

**3.4. Kết quả xác định hàm lượng flavonoid toàn phần**

**Bảng 7.** Mật độ quang của quercetin với các nồng độ khác nhau

Hàm lượng quercetin (µg/ml)	Mật độ quang			
	OD <sub>1</sub>	OD <sub>2</sub>	OD <sub>3</sub>	OD <sub>TBC</sub>
10	0,055	0,047	0,065	0,056
20	0,153	0,128	0,136	0,139
30	0,225	0,245	0,206	0,225
40	0,270	0,277	0,285	0,277
50	0,345	0,365	0,359	0,356
60	0,465	0,485	0,411	0,454

Từ Bảng 7 xây dựng được phương trình hồi quy tuyến tính của quercetin:  $y = 0,0077x - 0,0182$  với  $R^2 = 0,9948$ .

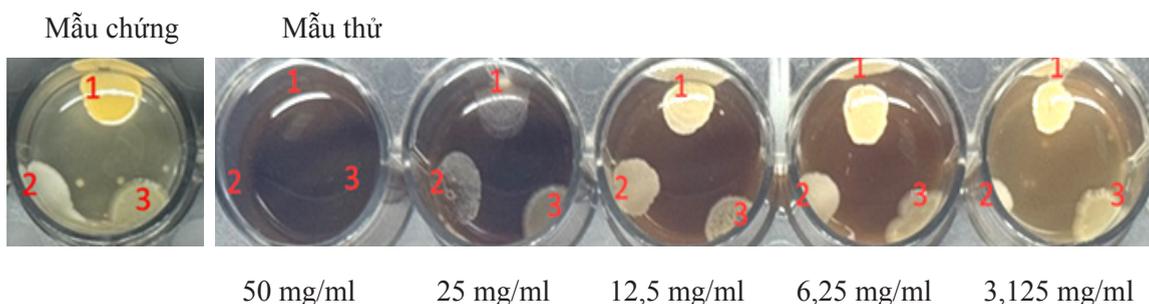
**Bảng 8.** Hàm lượng flavonoid toàn phần của cao chiết thạch vĩ

Mẫu	OD <sub>1</sub>	OD <sub>2</sub>	OD <sub>3</sub>	Hàm lượng flavonoid toàn phần trong 1 g cao chiết (mg quercetin/g)
Cao chiết thạch vĩ	0,497	0,533	0,511	11,05

**3.5. Kết quả thử nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của mẫu cao dược liệu từ lá cây thạch vĩ trên một số vi khuẩn gây bệnh**

**Bảng 9.** Kết quả thử nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của mẫu cao dược liệu từ lá cây thạch vĩ trên một số vi khuẩn gây bệnh

Tên vi khuẩn	MIC (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	50,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	50,0



**Hình 1.** Thử nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Chú thích: vi khuẩn cấy tại các vị trí như sau: (1): *Staphylococcus aureus*, (2): *Staphylococcus epidermidis*, (3): *Streptococcus pneumoniae*.

Nghiên cứu tiếp tục khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của mẫu thử bằng phương pháp pha loãng cao chiết trong môi trường thử nghiệm MHA tạo thành dãy nồng độ giảm dần: 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 (mg/ml môi trường). Nồng độ ức chế tối thiểu là nồng độ cao chiết (hoặc kháng sinh) thấp nhất mà tại đó xuất hiện vòng vô khuẩn, nên nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao. Kết quả Bảng 9 và Hình 1 cho thấy giá trị MIC của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ trên 3 chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* và *Streptococcus pneumoniae* đều cho kết quả MIC là 50 mg/ml.

#### IV. BÀN LUẬN

Nguồn dược liệu của nước ta vô cùng phong phú, trong đó có nhiều kháng sinh thực vật được y học cổ truyền dùng làm thuốc từ lâu. Chúng thường là những cây cỏ rất quen thuộc, mọc hoang dại hoặc được trồng ngay trong vườn như hành, tỏi, hẹ, kim ngân, sâm đại hành được nhân dân ta dùng làm thuốc tiêu độc, tiêu viêm, sát khuẩn, chữa các bệnh nhiễm khuẩn ngoài da, mụn nhọt, chốc lở, viêm họng, viêm phế quản và nhiều bệnh nhiễm khuẩn khác. Nhiều cây thuốc được nhân dân ta dùng chữa vết thương có kết quả tốt như mô qua, nọc sôi, lá vối, lá bông bong, sắn thuyền, lô hội, lá trầu không, sài đất [3].

Nhiều cây thuốc đã được các nhà khoa học nghiên cứu và tìm thấy những chất kháng sinh có tác dụng diệt nhiều loại vi khuẩn như dùng nước sắc lá đơn tương quân để chữa các chứng lở loét mụn nhọt, mẩn ngứa, viêm họng, viêm phế quản có kết quả tốt hoặc dùng lá trầu không chữa bỏng (giã nhỏ, vắt lấy nước bôi vào chỗ bỏng) hoặc dùng nước lá trầu không rửa các vết thương thay thuốc sát khuẩn. Kinh nghiệm chữa bệnh của nhân dân ta rất phong phú và quý giá [3, 13]. Những kết quả nghiên cứu y học gần đây đã chứng minh những kháng sinh thực vật của nước ta có tác dụng chữa được nhiều bệnh nhiễm khuẩn như cỏ mực [14], hà thủ ô trắng [15], lá cây vọng cách [16], núc nác [17], lá sa kê [18]. Như vậy những kinh nghiệm chữa bệnh của nhân dân ta là có cơ sở và có kết quả.

Trong bối cảnh Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về lá cây thạch vĩ, nghiên cứu này đã

khảo sát được hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng khuẩn của lá cây thạch vĩ góp phần định hướng cho việc sử dụng và khai thác lá cây thạch vĩ như một hoạt chất sinh học chiết xuất từ thực vật dùng để phòng và chữa nhiều bệnh lý đặc biệt là bệnh nhiễm khuẩn, sẽ đặt nền tảng cho việc phát triển nguồn dược liệu từ lá cây thạch vĩ.

#### 5. KẾT LUẬN

Cao chiết được xác định có hàm lượng polyphenol tổng (20,79 mg GAE trong 1 g cao chiết) và hàm lượng flavonoid toàn phần (11,05 mg quercetin trong 1 g cao chiết). Cao chiết có khả năng kháng lại một số chủng vi khuẩn như *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* với MIC là 50 mg/ml. Cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ có tiềm năng như là kháng sinh tự nhiên trong điều trị nhiễm khuẩn trong tương lai. Kết quả của nghiên cứu này mở ra những hướng nghiên cứu mới tiếp theo như cần trích xuất, tìm kiếm và đánh giá các hợp chất kháng khuẩn của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ, đồng thời khảo sát cơ chế kháng khuẩn đó sau này. Tuy nhiên, thông qua nghiên cứu này cũng cho thấy hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết là rất yếu, vì thế cần triển khai khảo sát thêm các hoạt tính khác của cao chiết như kháng viêm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. G. Staskiewicz. Phytoncides. Med. Weter. 1950; 6(2): 97-98.
2. M. Sato, H. Tsuchiya, I. Takase, H. Kureshiro, S. Tanigaki, and M. Inuma. Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics. *Phytotherapy Research* 1995; 9: 509-512.
3. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học; 2004: 249-250.
4. A.J. Siddiqui, C. Danciu, S.A. Ashraf, A. Moin, R. Singh, M. Alreshidi, M. Patel, S. Jahan, S. Kumar, M.I.M. Alkhinjar, R. Badraoui, M. Snoussi, M. Adnan. Plants-derived biomolecules as potent antiviral phytomedicines: new insights

- on ethnobotanical evidences against coronaviruses. *Plants* 2020; 9(9): 1244.
5. L.L. Cui, Y.Y. Zhang, W. Shao, D.M. Gao. Analysis of the HPLC fingerprint and QAMS from *Pyrrhosia* species. *Ind. Crops Prod.* 2016; 85: 29-37.
  6. W. Xiao, Y. Peng, Z. Tan, Q. Lv, C.O. Chan, J. Yang, S. Chen. Comparative evaluation of chemical profiles of pyrrhosiae folium originating from three *Pyrrhosia* species by HPLC-DAD combined with multivariate statistical analysis. *Molecules* 2017; 22(12): 2122.
  7. Y. Fan, H. Feng, L. Liu, Y. Zhang, X. Xin, D. Gao. Chemical components and antibacterial activity of the essential oil of six *Pyrrhosia* species. *Chem. Biodivers.* 2020; 17(10): e2000526.
  8. Z. Yuan-bei, L. Mei-di, Z. Jia-hong, L. Rong-di, Z. Chao, W. Ai-hong, Z. Sheng-yuan. Antioxidant and inhibitory effect on nitrosation of extracts from *Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell. *Nat. Prod. Res.* 2020; 32(4): 681.
  9. H.J. Lim, J. Kwon, H. Jeon. *Pyrrhosia lingua* reduces nociception in mouse. *Nat. Prod. Sci.* 2014; 20(4): 285-289.
  10. S. Akhmadjon, S.H. Hong, E.H. Lee, H.J. Park, Y.J. Cho. Biological activities of extracts from tongue fern (*Pyrrhosia lingua*). *J. Appl. Biol. Chem.* 2020; 63(3): 181-188.
  11. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát thành phần hóa học và điều kiện tách chiết polyphenol và flavonoid từ lá cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua*). *Tạp chí Y Dược học Phạm Ngọc Thạch* 2022; 2(4): 97-105.
  12. Cao Minh Nga, Trần Thị Huệ Vân. Miễn dịch đề kháng ký chủ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh; 2020:145, 284.
  13. Phạm Ngọc Khôi, Bùi Thế Vinh, Nguyễn Thị Thu Hương. Khảo sát một số hoạt tính sinh học *in vitro* từ dịch chiết lá cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell). *Tạp chí Y Dược học Phạm Ngọc Thạch* 2023; 3(2): 130-136.
  14. Đái Thị Xuân Trang, Võ Thị Tú Anh. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hoá và kháng vi khuẩn *Enterobacter cloacae* của các cao chiết từ cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.). *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ* 2016; 5(19): 76-83.
  15. Đái Thị Xuân Trang, Võ Thị Tú Anh, Lâm Hồng Bảo Ngọc. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas* Merr.). *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường* 2015; 40: 1-6.
  16. Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Trọng Tuân, Phan Kim Định, Trần Thanh Mến, Trần Chí Linh, Nguyễn Thanh Nhị. Khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây vọng cách (*Premna serratifolia* L.). *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ* 2018; 54(9): 46-52.
  17. Đái Thị Xuân Trang, Phùng Thị Hằng, Phạm Khánh Nguyên Huân, Trần Chí Linh, Lê Bích Hậu. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết từ cây núc nác (*Oroxylum indicum* L.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Trường Đại học Thái Nguyên* 2018; 225: 3-10.
  18. Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Trọng Tuân, Phan Kim Định, Trần Thanh Mến, Trần Chí Linh. Hoạt tính kháng oxy hoá và kháng khuẩn của lá sa kê (*Artocarpus altilis* L.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Trường Đại học Đà Nẵng* 2019; 17: 48-54.