

**KHẢ NĂNG HỢP LỰC CỦA CAO PHÂN ĐOẠN TRÂM TRÒN,
XĂNG MÃ CÒ KÈ TRÊN HOẠT TÍNH KHÁNG MRSA ATCC33591**

Mai Thị Ngọc Lan Thanh^{1}, Trương Vũ Thanh², Hoàng Anh Hoàng²*

1. Trường Đại học Thủ Dầu Một

2. Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc Gia TP.HCM

**Email: Thanhmtnl@tdmu.edu.vn*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Kháng sinh là một nhóm thuốc đặc biệt vì việc sử dụng kháng sinh không chỉ ảnh hưởng đến người bệnh mà còn ảnh hưởng đến cộng đồng. Ở Việt Nam, đây là một nhóm thuốc quan trọng vì bệnh lý nhiễm khuẩn nằm trong số những bệnh đứng hàng đầu cả về tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong. MRSA chiếm 82,1 % trong tổng số các chủng *S. aureus* phân lập là nguyên nhân gây tử vong liên quan viêm phổi bệnh viện. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định công thức hợp lực của các cao phân đoạn Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Kè trên hoạt tính kháng MRSA. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Sử dụng phương pháp khuếch tán đĩa, phương pháp vi pha loãng để xác định hoạt tính kháng MRSA của cao ethanol toàn phần Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Kè và các cao phân đoạn, thử nghiệm SRB chứng minh tính an toàn của cao ethanol toàn phần thực vật trên hai dòng tế bào nguyên bào sợi và tế bào ung thư gan. Chỉ số FIC được tính toán dựa vào phương pháp bàn cờ, xác định khả năng hợp lực của các cao phân đoạn ethyl acetate với nhau trên hoạt tính kháng MRSA. **Kết quả:** Công thức hợp lực giữa cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn với Xăng Mã được xác định ở nồng độ lần lượt bằng 0,008mg/mL và 0,625 mg/mL; công thức hợp lực giữa cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Kè được xác định ở nồng độ lần lượt bằng 0,063 mg/mL và 0,126 mg/mL. **Kết luận:** Đề tài xác định hoạt tính kháng MRSA của cao phân đoạn Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Kè, và các công thức hợp lực giữa các cao phân đoạn Trâm Tròn với Xăng Mã, Trâm Tròn với Cò Kè trên hoạt tính kháng MRSA lần đầu được báo cáo.

Từ khóa: MRSA, hợp lực, hoạt tính kháng khuẩn, cao chiết, cao phân đoạn

ABSTRACT

SYNERGISM OF SYZYGIUM GLOMERULATUM G., CARALLIA BRACHIATA L., GREWIA ASIATICA L EXTRACTS AGAINST MRSA ATCC 33591

Mai Thi Ngoc Lan Thanh^{1}, Truong Vu Thanh², Hoang Anh Hoang²*

1. Thu Dau Mot University

2. University of Technology, Viet Nam National University HCMC

Background: Antibiotic is a special class of drugs of which the use affects not only the patient but also the community. In Viet Nam, antibiotic is an important class of drugs because infectious diseases in Viet Nam is the top ratio of infections and death. MRSA accounted for 82.1% of all isolates of *S. aureus* as the cause of death related to hospital-acquired pneumonia. **Objective:** The synergistic formulations of the ethylacetate of *Syzygium glomeratum* G., *Carallia brachiata* L., and *Grewia asiatica* L extracts together on anti-MRSA activity are going to determine. **Materials and methods:** The diffusion method and the dilution method are used to determine of anti-MRSA activity of plant ethanol extracts and fractions. The SRB assay is used to determination of the safety of plant ethanol extracts on two cell lines of fibroblasts and liver cancer cells. The FIC index was calculated based on the checkerboard method to determine the synergistic ability of the ethyl acetate fractions together on the anti-MRSA activity. **Results:** Finally, the synergistic formulation of ethyl acetate of *Syzygium glomerulatum* G. and *Carallia brachiata* L is 0.008mg/mL and 0.625 mg/mL; the synergistic formulation of ethyl acetate of *Syzygium glomerulatum* G. and *Grewia asiatica* L. is 0.063 mg/mL and 0.126 mg/mL. **Conclusion:** The

anti-MRSA activity of Syzygium glomerulatum G., Carallia brachiata L., and Grewia asiatica L extracts are assessed, and these synergistic formulas were reported for the first time.

Keywords: MRSA, synergism, antibacterial activity, plant extract, fractions.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu ở 10 nước châu Á xác định tỷ lệ tử vong trong vòng 30 ngày liên quan viêm phổi bệnh viện từ 18,7 % đến 40,8 %, trong đó MRSA chiếm 82,1 % trong tổng số các chủng *S. aureus* phân lập được từ người bệnh [2]. Năm 2017, WHO đã xếp MRSA vào nhóm tác nhân gây bệnh quan trọng ưu tiên toàn cầu để nghiên cứu và phát triển các phương pháp điều trị mới. Đứng trước các thực trạng nói trên, việc tìm kiếm các phương pháp mới để kiểm soát vi khuẩn đề kháng kháng sinh, đặc biệt dạng siêu kháng thuốc là hết sức cấp bách [9]. Một trong những phương pháp có khả năng kháng vi khuẩn đề kháng kháng sinh là sự kết hợp các hợp chất thực vật với nhau [1]. Việt Nam có một hệ sinh thái phong phú và đa dạng, có tiềm năng về tài nguyên cây thuốc. Thực vật dùng làm thuốc trong điều trị các bệnh cấp tính và mãn tính đã và đang được sử dụng từ xa xưa theo các đơn thuốc y học cổ truyền. Các chất chuyển hóa thứ cấp trong thế giới thực vật thường có hoạt tính kháng khuẩn thấp. Nhưng khi có sự xâm nhiễm của vi khuẩn thì thực vật đáp ứng lại với trường hợp bệnh bằng chiến lược hợp lực, các chất trao đổi thứ cấp được tạo ra, tương tác với nhau để kháng lại vi khuẩn gây bệnh [3]. Hơn nữa, từ bộ dữ liệu của đề tài “Sàng lọc kháng sinh thực vật tan trong dung môi nước kháng *Staphylococcus aureus*” và đề tài “Thu nhận và sàng lọc cao chiết ethanol từ thực vật mọc tại Bình Dương có hoạt tính kháng khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA)” do nhóm tác giả đã nghiên cứu trước đây, nên hoạt tính hợp lực của các cao phân đoạn ethyl acetate Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Ke trên hoạt tính kháng MRSA được tiến hành thực hiện.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối Tượng Nghiên Cứu

Các mẫu dược liệu gồm Trâm Tròn (*Syzygium glomerulatum* G.), Xăng Mã (*Carallia brachiata* L.), Cò Ke (*Grewia asiatica* L.) được thu mẫu tại phường Định Hòa, Thành Phố Thủ Dầu Một, Tỉnh Bình Dương (định vị: 11°00'33.02" phía bắc, 106°39'00.37" phía đông, độ cao 11m±3m). Thời gian thu mẫu thực vật từ tháng 2 đến tháng 5. Các bộ phận của mẫu thực vật thu hái là lá và cành non dính lá. Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) ATCC® 33591 được cung cấp bởi công ty Microbiologies của Mỹ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thu nhận cao chiết

Các mẫu thực vật được thu hái vào buổi sáng, sau đó rửa sạch bằng nước máy để loại bỏ bụi bẩn, rửa lại bằng nước cất, để khô tự nhiên trong phòng thí nghiệm, ở nhiệt độ phòng khoảng 30 °C ± 2 °C, thường xuyên đảo trộn ít nhất 1 lần/ngày. Mẫu thực vật sau khi khô (khối lượng mẫu không đổi sau 2-3 ngày cân) được xay nhuyễn bằng máy xay dược liệu. Bột dược liệu được chiết ngâm dầm với ethanol 99,5 ° (tỉ lệ 1 g bột dược liệu:10 ml ethanol), trong thời gian 24 giờ, ở nhiệt độ 50 °C, lắc 100 rpm bằng máy lắc ổn nhiệt. Dịch chiết sẽ được thu nhận và lọc qua giấy lọc Whatman thu dịch, loại cặn. Dịch lọc thu được sẽ được cô quay ở 30 °C bằng máy cô quay. Sau cô quay, cao ethanol được thu và để trong tủ sấy ở 50 °C đến khối lượng không đổi, thu được cao ethanol toàn phần. Cao này trữ trong

tủ lạnh ở 4 °C cho đến khi sử dụng [4].

- Xác định độc tính tế bào của các cao thực vật

Thử nghiệm SRB (Sulforhodamine B) là một phương pháp so màu đơn giản và nhạy để xác định độc tính tế bào của một chất [7]. SRB là một thuốc nhuộm tích điện âm sẽ liên kết tĩnh điện được với các phân tích điện dương của protein. Lượng thuốc nhuộm liên kết sẽ phản ánh lượng protein tổng của tế bào. Trong thử nghiệm, tế bào được cố định, rửa và nhuộm với SRB. Sau đó SRB liên kết với protein tế bào được hòa tan tạo dung dịch trong suốt có màu hồng. Mật độ quang đo được của dung dịch tương quan với lượng protein tổng hay số lượng tế bào. Sự thay đổi lượng tế bào so với mẫu chứng phản ánh độc tính tế bào của chất nghiên cứu. Dòng tế bào ung thư gan (Hep G2) và tế bào fibroblast do ATCC (Hoa Kỳ) cung cấp, được nuôi cấy trong môi trường E'MEM có bổ sung L-glutamine (2 mM), HEPES (20 mM), amphotericin B (0,025 µg/ml), penicillin G (100 UI/ml), streptomycin (100 µg/ml), 10% (v/v) huyết thanh bào thai bò FBS và ủ ở 37°C, 5% CO₂. Tế bào đơn được cấy trên những đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ là 10⁴ tế bào/giếng. Sau 24 giờ nuôi cấy, quần thể tế bào được ủ với chất khảo sát ở các nồng độ trong 48 giờ. Sau đó, protein tổng từ tế bào thử nghiệm được cố định bằng dung dịch Trichloroacetic acid (Sigma) 50 % lạnh và nhuộm với dung dịch Sulforhodamine B 0,2 % (Sigma). Kết quả được đọc bằng máy ELISA reader ở hai bước sóng 492 nm và 620 nm. Các thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn.

Sau khi có giá trị mật độ quang ở bước sóng 492nm và 620nm:

Tính giá trị OD = OD₄₉₂ - OD₆₂₀ (1)

Tính OD₄₉₂ (hoặc OD₆₂₀) = OD_{tb} - OD_{blank} (2)

Tính tỉ lệ (%) gây độc tế bào theo công thức:

$$\%I = \left(1 - \frac{OD_{TN}}{OD_C}\right) \times 100\%$$

OD_{tb}: giá trị OD của giếng có chứa tế bào

OD_{blank}: giá trị OD của giếng blank (không có tế bào)

OD_{TN}: giá trị OD của mẫu thử tính từ công thức (1) và (2)

OD_C: giá trị OD của mẫu chứng (control) tính từ công thức (1) và (2)

- Thu nhận cao phân đoạn bằng phương pháp trích lỏng-lỏng

Cao toàn phần ethanol được hòa tan trong methanol và nước với tỷ lệ thể tích (1:1), dịch chiết được hòa tan hoàn toàn bằng máy đồng hóa mẫu trong vòng 3 phút. Dung dịch sau đó được chiết lỏng-lỏng lần lượt với các dung môi *n*-hexane, ethyl acetate. Đầu tiên, dung dịch cao toàn phần được phân tách bằng dung môi *n*-hexane theo tỉ lệ 1:1 (v/v) thu được pha *n*-hexan, làm khan bằng Na₂SO₄, lượng dung dịch còn lại tiếp tục được chiết bằng dung môi ethylacetate theo tỉ lệ 1:1 (v/v) thu được pha ethylacetate, làm khan bằng Na₂SO₄. Hai phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetate được thu nhận bằng phương pháp cô quay ở 30 °C, để loại bỏ hết dung môi. Cao phân đoạn pha trong DMSO 100 % và lọc qua phin lọc có lỗ lọc 0,22 µm để vô trùng, trữ lạnh ở 4°C cho đến khi sử dụng.

- Xác định khả năng hợp lực của các cao phân đoạn thông qua FICI

Thí nghiệm xác định sự hợp lực giữa hai cao phân đoạn được bố trí theo sơ đồ thí nghiệm. Giếng đối chứng chỉ có một biến gồm: 90 µL môi trường TSB, 10 µL dịch vi khuẩn có mật độ 10⁵ CFU/mL, 100 µL dung dịch khảo sát (được ký hiệu trên sơ đồ). Mỗi giếng kết hợp gồm: 90 µL môi trường lỏng Muller-Hinton, 10 µL dịch vi khuẩn có nồng độ 10⁶ CFU/mL, 50 µL dung dịch cao phân đoạn (A), 50 µL dung dịch cao phân đoạn (B), thể tích

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC CẦN THƠ SỐ 55/2022- SỐ CHUYÊN ĐỀ HỘI NGHỊ QUỐC TẾ

cuối trong mỗi giếng là 200 μ L. Đĩa 96 giếng được ủ trong 24 giờ, ở 37 °C trong tủ nuôi vi sinh. Sau thời gian ủ, giếng nào trong dãy phối hợp được quan sát bằng mắt thường không thấy sự tăng trưởng của MRSA được kiểm tra lại bằng phương pháp trải trên môi trường MHA, 150 μ L dịch trong giếng trải trên 3 đĩa MHA (mỗi đĩa 50 μ l dịch), các đĩa này sẽ tiếp tục được ủ trong 24 giờ, ở 37 °C trong tủ nuôi vi sinh. Sau thời gian ủ, đĩa trải không có sự hiện diện của vi khuẩn thì giá trị nồng độ của cao phân đoạn và giá trị nồng độ của kháng sinh trong giếng khảo sát được sử dụng để tính toán chỉ số FIC theo công thức (1):

$$FICI = FIC A + FIC B = \frac{MIC A \text{ trong sự kết hợp}}{MIC A} + \frac{MIC B \text{ trong sự kết hợp}}{MIC B} \quad (1)$$

Hợp lực khi $FICI \leq 0,5$; Hợp lực một phần khi $0,5 < FICI \leq 0,75$; Cộng hợp khi $0,75 < FICI \leq 1$; Không có tương tác khi $2 < FICI$ [5], [6], [8]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần (mỗi sơ đồ thí nghiệm được thực hiện lặp lại trên 3 đĩa 96 giếng).

- Hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Ke

Thí nghiệm hợp lực giữa cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Ke được tiến hành theo phương pháp bàn cờ, bố trí thí nghiệm theo sơ đồ.

Bảng 1. Sơ đồ tiến hành thí nghiệm

E	TSB	TSB+VK	DMSO 20%	DMSO 10%	CFT 16	CFT 8	SCTT Ea 1... SCTT Ea 6 (2 mg/mL, DMSO 20 %)
F	SCTT Ea (1,2,3) x Ck ea (1,2,3,4)						
G	SCTT Ea (4, 5, 6) x Ck ea (1,2,3,4)						
H	SCTT Ea (1,2,3,4,5,6) x Ck ea (5,6)						

TSB: Môi trường lỏng Tryptone soy; VK: vi khuẩn; CFT: cefoxitin; SCTT Ea1: cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn (2,0 mg/mL); SCTT Ea 6: cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn pha loãng theo dãy từ SCTT Ea1 (pha loãng 32 lần so với SCTT Ea1); CK Ea1: cao phân đoạn ethylacetate Cò Ke (8,04 mg/mL); CK Ea 6: cao phân đoạn ethylacetate Cò Ke pha loãng theo dãy từ CK Ea1 (pha loãng 32 lần so với CK Ea1)

- Hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã

Hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã được xác định qua chỉ số FIC. Phương pháp bàn cờ được tiến hành theo sơ đồ. SCTT EA1 là cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn có nồng độ bằng 1 mg/mL, sau mỗi giếng nồng độ pha loãng 2X đến SCTT EA6 được mô tả trong phương pháp; XM EA1 là cao phân đoạn ethylacetate Xăng Mã có nồng độ bằng 5 mg/mL, sau mỗi giếng nồng độ pha loãng 2X đến XM EA6 được mô tả trong phương pháp.

Bảng 2. Sơ đồ thí nghiệm

E	TSB	TSB+VK	DMSO 20%	DMSO 10%	VAN 4	VAN 2	SCTT Ea 1...SCTT Ea 6 1mg/mL, DMSO 10%
F	TSB	TSB+VK	DMSO 20%	DMSO 10%	VAN 4	VAN 2	XM Ea 1...XM Ea 6 5 mg/mL, DMSO 10%
G	SCTT Ea (1, 2, 3) x XM Ea (3,4,5,6)						
H	SCTT Ea (1,2,3,4,5,6) x XM Ea (1,2)						

TSB: Môi trường lỏng Tryptone soy; VK: vi khuẩn; DMSO: dimethyl sulfoxide; VAN 4: vancomycin (4 μ g/mL); VAN 2: vancomycin (2 μ g/mL); SCTT Ea1: cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn (2,0 mg/mL); SCTT Ea 6: cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn pha loãng theo dãy từ SCTT Ea1 (pha loãng 32 lần so với SCTT Ea1); XM Ea1: cao phân đoạn ethylacetate Xăng Mã (10 mg/mL); XM Ea 6: cao phân đoạn ethylacetate Xăng Mã

pha loãng theo dãy từ XM Ea1 (pha loãng 32 lần so với XM Ea1)

- **Xử lý thống kê số liệu:** Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Kết quả được xử lý thống kê bằng phần mềm STATGRAPHICS Centurion XV (Statpoint Technologies, Hoa Kỳ).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Cao ethanol toàn phần thực vật, hoạt tính kháng MRSA

Ba loài thực vật gồm Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Ke sau khi thu hái được thu nhận cao ethanol toàn phần và định tính hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa. Kết quả xác định kích thước vòng vô khuẩn trung bình của bốn cao ethanol toàn phần Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Ke trên MRSA từ 7,0 đến 11,5 mm

3.2. Độ tính tế bào của các cao ethanol toàn phần thực vật

Các mẫu cao thực vật được khảo sát khả năng gây độc trên mô hình tế bào động vật. Hai loại tế bào được lựa chọn là tế bào ung thư gan và tế bào nguyên bào sợi. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Phần trăm gây độc tế bào của các mẫu cao

Dòng tế bào	Mẫu	Phần trăm gây độc tế bào (%)			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB ± ĐLC
Hep G2	SCTTED (100mg/L)	36,20	35,60	26,62	32,81 ± 5,36
Fibroblast cell	SCTTED (100mg/L)	36,17	36,40	39,53	37,37 ± 1,88
Hep G2	CK ED (200mg/L)	-8,50	-5,38	3,66	-3,41 ± 6,32
Fibroblast cell	CK ED (200mg/L)	1,94	1,12	7,53	3,53 ± 3,49
Hep G2	XM ED (200mg/L)	-19,50	-15,38	-5,49	-13,46 ± 7,20
Fibroblast cell	XM ED (200mg/L)	5,81	8,99	12,90	9,23 ± 3,55

TB, ĐLC: trung bình, độ lệch chuẩn; SCTT ED: cao ethanol toàn phần Trâm Tròn; CK ED: cao ethanol toàn phần Cò Ke; XM ED: cao ethanol toàn phần Xăng Mã

Nhận xét: Các cao ethanol toàn phần Trâm Tròn ở nồng độ 100 mg/L phần trăm tế bào chết bằng 32,81 ± 5,36 đối với dòng tế bào ung thư gan, 37,37 ± 1,88 đối với tế bào nguyên bào sợi ; đối với cao ethanol toàn phần Xăng Mã, Cò Ke ở nồng độ 200 mg/L phần trăm tế bào chết lần lượt bằng -3,41 ± 6,32, -13,46 ± 7,20 đối với tế bào ung thư gan, phần trăm tế bào chết lần lượt bằng 3,53 ± 3,49, 9,23 ± 3,55 đối với dòng tế bào nguyên bào sợi.

3.3. Hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Ke

Bảng 4. Kết quả của thí nghiệm hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Ke

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+

Ghi chú: (-): không có sự tăng trưởng của MRSA, (+): có sự tăng trưởng của MRSA

Nhận xét: Khảo sát khả năng hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn với Cò Ke theo sơ đồ bố trí thí nghiệm ở Bảng 1 bằng phương pháp bàn cờ, kết quả được trình bày ở Bảng 4, dãy H là sự phối hợp giữa hai cao phân đoạn với nhau, giếng 1 đến giếng 4 không có sự tăng trưởng của MRSA. Vì vậy chỉ số FIC được tính toán dựa trên giếng 3 và giếng 4 ở dãy H.

Bảng 5. Chỉ số FIC của hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò ke

MIC (mg/mL)	MRSA	
	3	4
MIC SCTT EA-CK EA	0,125	0,063
MIC SCTT EA	1,000	1,000
MIC CK EA -SCTT EA	0,126	0,126
MIC CK EA	2,010	2,010
FIC SCTT EA	0,125	0,063
FIC CK EA	0,063	0,063
FICI	0,188	0,126
	Hợp lực	

Nhận xét: Kết quả được trình bày ở Bảng 5, chỉ số FIC bằng 0,126 trên MRSA, do đó xác định khả năng hợp lực giữa cao phân đoạn Trâm Tròn và cao phân đoạn Cò Ke. Giá trị MIC trong sự kết hợp của cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn giảm 16 lần so với giá trị MIC phân đoạn một mình, và giá trị MIC trong sự kết hợp của cao phân đoạn ethylacetate Cò Ke giảm 16 lần so với giá trị MIC của phân đoạn một mình. Công thức hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Ke là cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn ở nồng độ 0,063 mg/mL và cao phân đoạn ethylacetate Cò Ke ở nồng độ là 0,126 mg/mL.

3.4. Hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã

Kết quả được trình bày ở Bảng 6, ở dãy E và dãy F, giếng số 7 không có sự tăng trưởng của MRSA, xác định lại giá trị MIC của hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã. Ở dãy G và H là sự phối hợp giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã, từ giếng số 1 đến giếng số 12 không có sự tăng trưởng của chủng MRSA, vì vậy chỉ số FIC được tính toán dựa trên dãy H từ giếng số 7 đến giếng số 12.

Bảng 6. Kết quả của thí nghiệm hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: (-): không có sự tăng trưởng của MRSA, (+): có sự tăng trưởng của MRSA

Nhận xét: Kết quả tính toán chỉ số FIC được trình bày ở Bảng 7.

Bảng 7. Chỉ số FIC của cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã

MIC (mg/mL)	MRSA					
	7	8	9	10	11	12
MIC SCTT EA-XM EA	0,250	0,125	0,063	0,031	0,016	0,008
MIC SCTT EA	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
MIC XM EA-SCTT EA	0,625	0,625	0,625	0,625	0,625	0,625
MIC XM EA	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500
FIC SCTT EA	0,250	0,125	0,063	0,031	0,016	0,008
FIC XM EA	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250
FICI	0,500	0,375	0,313	0,281	0,266	0,258
	Hợp lực					

Nhận xét: Chỉ số FIC bằng 0,258 xác định khả năng hợp lực của hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã. Nồng độ của cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn

trong sự kết hợp bằng 0,008 mg/mL giảm 128 lần so với giá trị MIC của cao phân đoạn này một mình, và nồng độ của cao phân đoạn ethylacetate Xăng Mã trong sự kết hợp bằng 0,625 mg/mL giảm 4 lần so với giá trị MIC của cao phân đoạn này một mình trong hoạt tính kháng MRSA. Công thức hợp lực của hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Xăng Mã là SCTT Ea ở nồng độ bằng 0,008mg/mL và XM Ea ở nồng độ bằng 0,625 mg/mL.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Cao ethanol toàn phần thực vật, hoạt tính kháng MRSA.

Ở Việt Nam vẫn còn ít các nghiên cứu về hoạt tính kháng MRSA, chủ yếu là hoạt tính kháng MRSA của cao chiết. Hơn nữa, trong dân gian Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Ke được sử dụng như nguồn thực phẩm, vì vậy để xác định tính an toàn của cao ethanol toàn phần nghiên cứu đã tiến hành thử nghiệm tính gây độc trên hai dòng tế bào ung thư gan Hep2 và tế bào nguyên bào sợi.

4.2. Độc tính tế bào của các cao ethanol toàn phần thực vật

Các cao ethanol toàn phần Trâm Tròn, Xăng Mã, Cò Ke có tiềm năng sử dụng trong liệu pháp kháng khuẩn vì không gây độc tế bào. Hơn nữa, bốn dược liệu này theo dân gian cũng được sử dụng thường bằng đường uống và ăn hàng ngày.

4.3. Hợp lực giữa hai cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn và Cò Ke, Trâm Tròn và Xăng Mã

Trên cao ethanol toàn phần, phương pháp chiết lỏng-lỏng phân chia cao ethanol toàn phần thành các phân đoạn có tính phân cực khác nhau được nghiên cứu tiếp theo. Các cao phân đoạn đã được đánh giá khả năng kháng MRSA thông qua giá trị MIC (kết quả không trình bày), xác định các công thức hợp lực giữa cao phân đoạn với nhau trên MRSA được tiến hành.

Giống như cao phân đoạn ethylacetate Cò Ke, cao phân đoạn ethylacetate Xăng Mã cho khả năng hợp lực mạnh với cao phân đoạn ethylacetate Trâm Tròn. Điều này có thể giải thích được là do phân đoạn có nhiều chất khác nhau nên tác động kháng khuẩn với nhiều đích khác nhau. Khi hợp lực các cao phân đoạn với nhau, các chất có thể có điều kiện hợp lực để tăng hoạt tính kháng khuẩn ở nhiều đích tác động. Kết quả này góp phần chứng minh cho luận điểm về sự phối trộn thuốc trong các bài thuốc Y học cổ truyền phương Đông trong điều trị bệnh.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được hoạt tính kháng MRSA của cao ethanol toàn phần Trâm Tròn, Xăng Mã và Cò Ke, đồng thời xác định tính an toàn của ba cao ethanol toàn phần trên hai dòng tế bào nguyên bào sợi và tế bào ung thư gan. Khả năng hợp lực của cao phân đoạn ethyl acetate Trâm Tròn với Xăng Mã và Cò Ke trên hoạt tính kháng MRSA được xác định thông qua chỉ số FIC. Công thức giữa các cao phân đoạn ethyl acetate Trâm Tròn với Xăng Mã, Trâm Tròn với Cò Ke lần đầu được báo cáo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chan, B.C.-L., *et al.* (2011), Chinese medicinal herbs against antibiotic-resistant bacterial pathogens. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 2, pp.773-781.
2. Chung DR, Song JH, Kim SH, Thamlikitkul V, Huang SG, *et al.*(2011), High prevalence of

- multidrug-resistant nonfermenters in hospital-acquired pneumonia in Asia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 184(12), pp.1409-1417.
3. Hemaiswarya, S., A.K. Kruthiventi, and M. Doble (2008), Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), pp. 639-652.
 4. Ingle, K.P., *et al.* (2017), Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(1), pp.32-36.
 5. Issam, A.-A., *et al.* (2015), Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. *Phytomedicine*, 22(2), pp.245-255.
 6. Kuok, C.-F., *et al.* (2017), Synergistic antibacterial effects of herbal extracts and antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A computational and experimental study. *Experimental Biology and Medicine*, 242(7), pp.731-743.
 7. Nguyen Thi My Nuong and Ho Huynh Thuy Duong (2016), Selective cytotoxicity of a Vietnamese traditional formula, Nam Dia long, against MCF-7 cells by synergistic effects. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), pp.1-10.
 8. White, R.L., *et al.* (1996), Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40(8), pp.1914-1918.
 9. Wright, G.D. and A.D. Sutherland (2007), New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends in molecular medicine*, 13(6), pp.260-267.

(Ngày nhận bài: 13/10/2022 - Ngày duyệt đăng: 11/12/2022)
