

Đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* của một số dịch chiết thảo dược Việt Nam

Đỗ Thị Thanh Trung¹, Phạm Thị Vui¹, Nguyễn Huyền Trang², Phạm Vinh Hoa²,
Nguyễn Thị Thanh Thi¹, Phạm Thị Lương Hằng¹, Phạm Bảo Yên^{3*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Khoa Y học cơ sở, Trường Đại học Y tế công cộng

³Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ enzyme và protein, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 2/1/2018; ngày chuyển phản biện 5/1/2018; ngày nhận phản biện 2/2/2018; ngày chấp nhận đăng 8/2/2018

Tóm tắt:

Cao chiết methanol và ethyl acetat của 30 thảo dược, đạt hàm lượng 3,43-35,29%, được đánh giá khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP). Khảo sát sự có mặt của 3 chất đã được chứng minh có tác dụng ức chế HP gồm quercetin, berberin và acid glycyrrhizic bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng cho thấy berberin phổ biến hơn 2 chất còn lại (20/30 loài thảo dược). 10/30 thảo dược ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn HP với đường kính vòng kháng khuẩn 12-42 cm, trong đó, 8/10 loài chứa berberin và 7/10 loài chứa quercetin. Trong đó, cao chiết đỗ rùng và trầu không chứa nhiều chất khác quercetin, berberin và acid glycyrrhizic nên được lựa chọn để chiết tách và phân lập các hợp chất tiềm năng cho thử nghiệm tác dụng ức chế HP trong các nghiên cứu tiếp theo.

Từ khóa: Dịch chiết, *helicobacter pylori*, thảo dược, ức chế.

Chỉ số phân loại: 3.4

Evaluation of inhibitory effects of Vietnamese medicinal plant extracts on *Helicobacter pylori*

Thi Thanh Trung Do¹, Thi Vui Pham¹, Huyen Trang Nguyen², Vinh Hoa Pham²,
Thi Thanh Thi Nguyen¹, Thi Luong Hang Pham¹, Bao Yen Pham^{3*}

¹Biology Department, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

²Faculty of Basic Medicine, Hanoi University of Public Health

³The Key laboratory of enzyme protein technology, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

Received 2 January 2018; accepted 8 February 2018

Abstract:

Ethyl acetate and methanol extracts of 30 Vietnamese medicinal plants with dry weight contents ranging around 3.43-35.29% were evaluated for the inhibition ability on *Helicobacter pylori* (HP). Analyses regarding the presence of three previously identified anti-HP compounds including quercetin, berberine and glycyrrhizic acid by thin layer chromatography indicated that berberine was the most common compound (20/30 plants). Ten of these 30 plants showed anti-HP activities, with inhibition zones from 12 to 42 cm, 8 of which contained berberine, and 7 of which comprised quercetin. Two plants, wild-bean and *Piper betle* showed significant activities against HP; therefore, they were identified to be further extracted and isolated to find potential compounds for HP inhibitory effect.

Keywords: Extract, HP, inhibitor, medicinal plants.

Classification number: 3.4

Đặt vấn đề

HP là xoắn khuẩn gram âm có liên quan chặt chẽ với các bệnh đường tiêu hóa. Đặc biệt, Tổ chức Y tế thế giới (WHO) đã phân loại HP là nguyên nhân loại I dẫn đến ung thư dạ

dày [1]. Phác đồ điều trị HP thường kết hợp các loại thuốc khác nhau như: Thuốc kháng sinh, ức chế bơm proton, khóa thụ thể H2 và các muối bismuth mang lại hiệu quả lên đến 90% [2-3]. Tuy nhiên, khi điều trị theo các phác đồ kháng

*Tác giả liên hệ: Email: yepb@vnu.edu.vn

sinh dẫn đến một số tác dụng phụ không mong muốn, như loạn khuẩn đường ruột, nhiễm khuẩn các cơ quan, đặc biệt là hiện tượng kháng kháng sinh của các chủng HP ngày càng tăng [4]. Những liệu pháp điều trị thay thế phát triển từ việc sử dụng thảo dược trong y học dân gian được nghiên cứu để tìm ra chất ức chế HP mới. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra tác dụng ức chế HP của nhiều loại thực phẩm sử dụng trong đời sống hàng ngày như quế, việt quất, bông cải xanh và tỏi [5]. Đáng chú ý, nhiều dịch chiết từ những loài thực vật đã được chứng minh là có hoạt tính ức chế khuẩn như *Rheum palmatum*, *Rhus javanica*, *Coptis* và *Eugenia caryophyllata* ở Trung Quốc; *Myroxylon peruiferum* ở Brazil; *wasabi* ở Hàn Quốc và Nhật Bản [6]. Trong bài báo này, chúng tôi báo cáo về kết quả tách chiết 30 loài thảo dược sử dụng trong chữa bệnh dạ dày và khả năng ức chế chủng HP của các dịch chiết này.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu và hóa chất

Nguyên liệu: 30 mẫu thảo dược của Việt Nam được cung cấp bởi Viện Dược liệu ở dạng khô và bảo quản ở 4°C. Tên dược liệu và các bộ phận thu hái được thống kê ở bảng 1.

Hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm này bao gồm các loại dung môi hữu cơ dùng cho tách chiết như ethyl acetat, methanol, n-hexan, dichlormethane và bản sắc ký lớp mỏng. Chất chuẩn quercetin-Q, berberin-B và acid glycyrrhizic-G được cung cấp bởi hãng Sigma.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chiết xuất: Các mẫu thảo dược được nghiền thành bột mịn rồi chiết lần lượt với 2 loại dung môi ethyl acetat và methanol [7]. Trước hết, 5 g bột khô của mỗi mẫu dược liệu được ngâm chiết trong 200 ml dung môi ethyl acetat ở nhiệt độ phòng. Sau 24 giờ, hỗn hợp được ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 5 phút để thu dịch nổi (dịch chiết ethyl acetat). Phần cặn được tiếp tục chiết với 200 ml dung môi methanol bằng cách lặp lại các bước ngâm chiết và ly tâm như trên để thu dịch chiết methanol. Mỗi loại dịch chiết ethyl acetat và methanol được làm bay hơi dung môi hoàn toàn bằng máy cô quay chân không đến cao chiết có khối lượng không đổi, rồi bảo quản ở -20°C cho đến khi thử hoạt tính.

Phương pháp điều chế tách chất béo của dịch chiết tràu không và đỗ rùng: Các dịch chiết ethyl acetate và methanol từ 5 g mỗi loại thảo dược bột tràu không hoặc đỗ rùng được gộp lại và cô quay đến khi còn khoảng 10 ml. 1 g silicagel được cho vào mỗi dịch chiết cô đặc và để khô hoàn toàn. Sau đó, 20 ml n-hexan được bổ sung vào hỗn hợp dịch chiết - silicagel và lắc đều trong 20 phút, ly tâm thu dịch trong được phân đoạn n-hexane. Phần cặn silicagel còn lại tiếp tục

Bảng 1. Kết quả hàm lượng cao chiết thu được từ 30 thảo dược.

STT	Tên khoa học	Tên thường gọi	Bộ phận dùng	Cao EtOAc (%)	Cao MeOH (%)	Tổng (%)
1	<i>Saussurea lappa Clarke</i>	Bắc mộc hương	Rễ	4,36	9,3	13,66
2	<i>Paonia lactiflora Pall</i>	Bạch thược	Rễ	1,09	6,03	7,12
3	<i>Atractylodes macrocephala Koidz</i>	Bạch truật	Thân rễ	2,25	5,69	7,94
4	<i>Taraxacum officinal Wig</i>	Bồ công anh	Thân, cành, lá, hoa	2,64	5,2	7,84
5	<i>Glycyrrhiza glabra L</i>	Cam thảo	Rễ	9,51	12,59	22,1
6	<i>Ampelopsis cantoniensis</i>	Chè dây	Cành, lá (chủ yếu)	13,11	7,58	20,69
7	<i>Oldenlandia eapitellata Kuntze</i>	Dạ cầm	Lá và ngọn	1,41	2,41	3,82
8	(Chưa xác định)	Đỗ rùng	Hạt	14,8	20,39	35,19
9	<i>Allium cepa L</i>	Hành tây tím	Thân rễ	1,64	6,31	7,95
10	<i>Allium ascalonicum</i>	Hành tím	Thân rễ	1,96	9,26	11,22
11	<i>Oroxylum indicum L</i>	Hoàng bá nam	Vỏ thân	0,91	10,42	11,33
12	<i>Astragalus membranaceus (Fisch)</i>	Hoàng kỳ	Rễ	3,64	8,25	11,89
13	<i>Coptis teeta Wall</i>	Hoàng liên	Rễ	4,56	16,84	21,4
14	<i>Lonicera japonica Thunb</i>	Kim ngân hoa	Hoa chớm nở	2,42	15,85	18,27
15	<i>Ardisia silvestris</i>	Lá khô	Lá	5,67	4,71	10,38
16	<i>Forsythia suspensa Vahl</i>	Liên kiều	Quả	13,11	13,29	26,4
17	<i>Aloe vera L var</i>	Lô hội	Nhựa cây	4,75	27,3	32,05
18	<i>Croton tonikensis Gagnep</i>	Nam khô sâm	Rễ	2,63	2,68	5,31
19	<i>Curcuma zedoaria Berg.Rosc.</i>	Nghệ đen	Rễ (củ)	2,04	9,71	11,75
20	<i>Curcuma longa L</i>	Nghệ vàng	Củ	8,38	24,98	33,36
21	<i>Cyrtomium fortunei J.Smi</i>	Quán chúng	Thân rễ	4,59	24,62	29,21
22	<i>Cinnamomum loureiroi</i>	Quế	Cành	4,37	7,89	12,26
23	<i>Amonum Xanthiodes Wall</i>	Sa nhân	Quả	3,05	7,58	10,63
24	<i>Pophora subprosrlata Chu etT. Chen</i>	Sơn đậu căn	Rễ	1,5	5	6,5
25	<i>Cimicifuga foetida L</i>	Thăng ma	Rễ	1,04	2,39	3,43
26	<i>Smilax grabra</i>	Thỏ phục linh	Rễ	1,54	15,57	17,11
27	<i>Caesalpinia sappan</i>	Tô mộc	Gỗ thân	4,55	10,38	14,93
28	<i>Strobilanthes flaccidifolius Nees</i>	Trâm	Lá và thân rễ	4,62	14,92	19,54
29	<i>Pericarpium Citri deliciasae</i>	Trần bì	Vỏ quả	1,23	20,39	21,62
30	<i>Piper betle L</i>	Trầu không	Lá	4,3	11,42	15,72

được hòa tan trong 20 ml dichloromethane và ly tâm để thu phân đoạn dichloromethane. Phần cặn silicagel còn lại được lặp lại tương tự, liên tiếp với ethyl acetate và methanol để thu tiếp hai phân đoạn ethyl acetate và methanol.

Phương pháp sắc ký bản mỏng: Cao dịch chiết được hòa tan lại trong dung môi ethyl acetat hoặc methanol ở nồng độ 30 mg/ml. Các chất chuẩn được hòa tan trong dung môi methanol ở nồng độ 3 mg/ml. Các dịch chiết và dung dịch chất chuẩn được chấm lên bản sắc ký silicagel pha thuận với các hệ dung môi khai triển gồm: (1) toluen:ethyl acetat:aceton:acid formic (TEAF-5:3:1:1); (2) butanol-acid

acetic-H₂O; (3) cloroform-acid acetic-methanol-H₂O. Sắc ký đồ được quan sát dưới đèn UV ở bước sóng 254 nm và 365 nm để phát hiện và so sánh các băng chất với các chất chuẩn.

Phân lập chủng vi khuẩn và phương pháp nuôi cấy: Mẫu sinh thiết được nhuộm Giemsa xác định sự có mặt của vi khuẩn HP. Mẫu dương tính được nghiền nát bằng chày nghiền và được cấy vào môi trường thạch máu cừu 5% và kháng sinh chọn lọc cho phân lập HP (Helicobacter pylori Selective Supplement) [8]. Các đĩa thạch được ủ ở 37°C trong điều kiện vi hiếu khí tạo bởi túi tạo môi trường GasPak™ (BD). Kết quả được đọc sau 7 ngày với sự xuất hiện của các khuẩn lạc nhỏ, trong suốt, đường kính 1-2 mm. Các thử nghiệm được sử dụng để tiếp tục xác định vi khuẩn HP bao gồm nhuộm Gram, khả năng sinh các enzym urease, catalase, oxidase và PCR với cặp mồi đặc hiệu mã hóa cho gen lipase của HP.

Thử nghiệm khả năng ức chế *H. pylori* của các dịch chiết: Cao chiết khô được hòa tan vào dung môi DMSO để thu được dung dịch có nồng độ là 200 mg/ml. Trước khi thử hoạt tính, 20 µl dịch chiết (nồng độ 200 mg/ml) được nhỏ lên trên khoanh giấy thấm và để bay hơi dung môi trong 3 giờ. Vi khuẩn HP được pha thành huyền dịch có độ đục McFarland là 2 (OD₆₂₅ = 0,451, khoảng 6x10⁸ tế bào) và cấy trên đĩa thạch máu. Sau đó, các khoanh giấy được đặt lên đĩa đã cấy vi khuẩn rồi ủ trong điều kiện vi hiếu khí ở 37°C. Kết quả vòng kháng khuẩn có thể quan sát sau 5 ngày.

Kết quả nghiên cứu

Lượng cao chiết tổng số từ các mẫu thảo dược

Với 30 mẫu thảo dược dùng trong nghiên cứu, sau khi chiết trong 2 dung môi thu được 60 loại cao chiết khác nhau. Sau khi làm khô, tổng lượng cao khô methanol và ethyl acetat của các mẫu nằm trong khoảng 0,19-1,76 g (tương đương 3,43-35,29%). Với hàm lượng cao khô của hai loại dịch chiết chỉ đạt 3,43% cho thấy, 2 dung môi ethyl acetat và methanol không phù hợp để chiết xuất các hợp chất từ rễ cây thăng ma. Ngược lại, hai loại dung môi này phù hợp để chiết xuất các hợp chất từ các mẫu đỗ rùng, nghệ vàng và quán chúng với hàm lượng cao khô lần lượt đạt 35,29%; 33,36% và 29,21%. Kết quả điều chế cao được chỉ ra ở bảng 1.

Khảo sát sự có mặt của chất chuẩn trong dịch chiết

3 chất quercetin-Q, berberin-B và acid glycyrrhizic-G đã được chứng minh là có hoạt tính ức chế HP hoặc enzym cần thiết cho sự phát triển HP và là thành phần có trong các dược liệu cổ truyền Việt Nam [9]. Sự có mặt của 3 hợp chất này trong dịch chiết thảo dược được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng. Kết quả sắc ký cho thấy, 5/30 thảo dược chứa acid glycyrrhizic (bảng 2). Tương tự, khi khảo

sát sự có mặt của berberin cho thấy 9/30 thảo dược xuất hiện băng cùng vị trí với mẫu đối chứng cho thấy mẫu hoàng liên có băng berberin đậm nhất. Chất quercetin xuất hiện phổ biến hơn ở 20/30 thảo dược, hàm lượng chất này nhiều nhất ở dịch chiết từ tô mộc và hoàng bá nam.

Bảng 2. Sự có mặt của các chất chuẩn trong dịch chiết thảo dược.

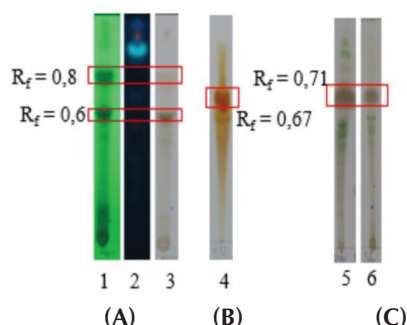
Mẫu	Dung môi Ethyl acetate (EtOAc)			Dung môi Methanol (MeOH)		
	B	G	Q	B	G	Q
Bắc mộc hương	-	-	-	+	-	-
Bạch thược	-	-	-	+	-	-
Bạch truật	-	-	-	-	-	-
Bồ công anh	-	-	-	-	-	-
Cam thảo	-	+	+	-	+	-
Chè dây	-	-	+	+	-	+
Dạ cẩm	-	-	+	-	-	+
Đỗ rùng	-	-	-	-	-	-
Hành tây tím	-	-	-	-	-	-
Hành tím	-	-	+	-	-	+
Hoàng bá nam	+	-	+	-	+	-
Hoàng kỳ	-	-	-	-	-	-
Hoàng liên	+	-	-	-	-	+
Kim ngân hoa	+	-	+	-	-	-
Lá khô	-	-	+	-	-	+
Liên kiều	-	+	+	+	-	+
Lô hội	-	+	-	-	-	-
Nam khỗ sâm	-	-	+	+	+	+
Nghệ đen	-	-	-	+	-	+
Nghệ vàng	-	-	+	-	-	-
Quán chúng	-	-	+	-	-	-
Quế	-	-	+	+	-	-
Sa nhân	-	-	-	-	-	-
Sơn đậu căn	-	-	-	-	-	+
Thăng ma	-	-	-	-	-	-
Thỏ phục linh	-	-	+	-	+	+
Tô mộc	-	-	+	-	-	+
Trâm	-	-	-	-	-	-
Trần bì	-	-	+	-	-	-
Trầu không	-	-	-	+	+	+

+: Có; -: Không.

Phân tích thành phần dịch chiết bằng các phương pháp sắc ký

Ngoài việc so sánh để xác định sự có mặt của các chất chuẩn, tất cả các dịch chiết được phân tích thành phần bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng. Các mẫu sau khi thấm lên bản mỏng được chạy trong hệ dung môi khai triển TEAF (5:3:1:1) và soi dưới ánh sáng khả kiến. Một số ví dụ về

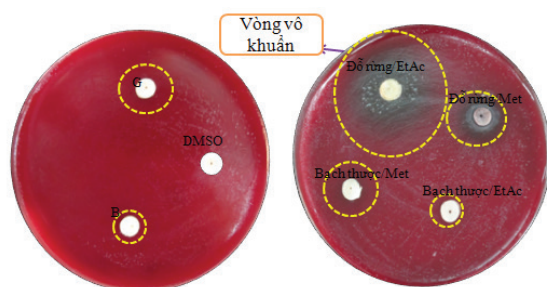
dịch chiết có băng điểm hình được thể hiện qua hình 1. Dịch chiết EtOAc nghệ vàng có băng màu vàng đậm, hệ số $R_f = 0,67$ (hình 1A), tương tự trong một nghiên cứu, băng này là curcumin [10]. Dịch chiết hoàng bá nam/EtOAc xuất hiện 2 băng màu nâu đen, với hệ số $R_f = 0,6$ và $R_f = 0,8$ (hình 1B), các chất này có thể thuộc nhóm sterol.



Hình 1. Sắc ký đồ một số dịch chiết hoặc phân đoạn. (A) Dịch chiết hoàng bá nam/EtOAc: 1) Bước sóng 254 nm, 2) Bước sóng 366 nm, 3) Ánh sáng thường; (B) 4) Dịch chiết nghệ vàng/EtOAc dưới ánh sáng thường; (C) 5) Dịch chiết trầu không/EtOAc dưới ánh sáng thường, 6) Dịch chiết trầu không/MeOH dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ (hệ dung môi TEAF-5:3:1:1) có thể nhận thấy dịch chiết trầu không trong EtOAc và MeOH đều có 1 băng rất lớn, dưới ánh sáng thường có màu xám đậm, hệ số $R_f = 0,71$, thành phần cao chiết này cần được nghiên cứu thêm.

Kết quả thử vòng kháng khuẩn

Hình 2 cho thấy, khả năng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn sử dụng phương pháp khoan giấy khuếch tán thể hiện bởi vòng vô khuẩn với đường kính khác nhau chứng tỏ khả năng ức chế khác nhau của các loại dược liệu so với đối chứng âm (dung môi) và đối chứng dương (B, G, Q). Kết quả đánh giá khả năng kháng HP cho thấy 26 dịch chiết từ 16/30 loại thảo dược có khả năng ức chế vi khuẩn HP (không quan sát thấy khuẩn lạc vi khuẩn xung quanh khoan giấy). Đáng chú ý, một số loài như nghệ đen, trầu không, chè dây, đỗ rừng có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn HP (bảng 3).



Hình 2. Hoạt độ ức chế vi khuẩn HP của một số thảo dược.

Đặc biệt, khi thử nghiệm cách tách chiết phối hợp nhiều dung môi để loại chất béo đối với 2 mẫu trầu không và đỗ rừng cho thấy dịch chiết trong dung môi ethyl acetat có khả

năng ức chế vi khuẩn mạnh nhất và tăng lên nhiều sau khi tách chất béo (đường kính vòng vô khuẩn của đỗ rừng tăng từ $15,3 \pm 2,3$ mm lên 26 mm).

Bảng 3. Đường kính vòng vô khuẩn của một số dịch chiết trong ethyl acetat.

TT	Dịch chiết	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
1	Nghệ đen	42
2	Quế chi	36
3	Bắc mộc hương	36
4	Trầu không	35
5	Đỗ rừng	26
6	Kim ngân hoa	24
7	Tô mộc	24
8	Sa nhân	24
9	Chè dây	22
10	Dạ cẩm	12
11	Đối chứng âm (dung môi)	0

Bàn luận

Lượng cao khô thu được từ dịch chiết phụ thuộc vào độ phân cực của các loại dung môi sử dụng. Dung môi càng phân cực càng có khả năng hòa tan nhiều hợp chất thứ cấp của thực vật. Trong đó, nhìn chung, dịch chiết bằng dung môi methanol cho hiệu suất chiết cao hơn chiết bằng dung môi ethyl acetat với lượng cao khô trung bình tương ứng là 11,2% so với 4,4% từ 5 g bột thảo dược. Nhiều nghiên cứu đã giải thích dung môi methanol có độ phân cực cao nên có khả năng hòa tan nhiều chất thứ sinh hơn các dung môi khác [11]. Ngoài ra, lượng chất thu được phụ thuộc rất nhiều vào bộ phận thu hái gồm thân, lá, rễ. Nhiều nghiên cứu cho thấy, các hợp chất thứ sinh thường tập trung ở rễ và quả, tuy nhiên, lá lại là bộ phận dễ thu hái hơn.

Trong số 30 mẫu thảo dược nghiên cứu, 10 mẫu có hoạt tính kháng HP mạnh, trong đó có một số loài như đỗ rừng, nghệ đen và trầu không. Theo nghiên cứu của Ronita De và cộng sự (2009), curcumin tách chiết từ cây nghệ Ấn Độ ức chế vi khuẩn HP với nồng độ tối thiểu 5-50 $\mu\text{g/ml}$ [10]. Ở trong nước, Vũ Nam và cs. đã công bố chè dây có tác dụng tiêu diệt HP trên 40% [12]. Nhóm nghiên cứu này cũng nghiên cứu tác dụng ức chế HP bởi lá trầu không và đưa ra nhận định rằng dịch chiết toàn phần lá trầu không có khả năng tiêu diệt HP trên 50% [13]. Như vậy, kết quả sàng lọc ban đầu của nghiên cứu này phù hợp với các công bố trước đó về tác dụng ức chế HP mạnh của các thảo dược nêu trên.

Điểm đáng lưu ý là hầu hết các dược liệu có hoạt tính ức chế mạnh trong thành phần đều chứa berberin (8/10 loài) và quercetin (7/10 loài). Kết quả phân tích này thống nhất với một số thử nghiệm chứng tỏ khả năng kháng HP của berberin, đặc biệt là khi kết hợp với curcumin trong

nghe vàng [14]. Riêng hoàng liên, dù đã được chỉ ra thành phần có chứa nhiều berberin nhưng không nằm trong số 10 dịch chiết có hoạt tính mạnh nhất. Tương tự, dịch chiết từ cam thảo khi phân tích cho thấy xuất hiện bằng của acid glycyrrhizic cũng không nằm trong danh sách này, mặc dù hợp chất này đã được chứng minh có hoạt tính ức chế vi khuẩn. Ngược lại, một số dịch chiết dù không có hoặc có bằng chất chuẩn rất mờ nhưng vẫn cho đường kính vòng kháng khuẩn lớn như sa nhân, trầu không và đỗ rùng, có thể khả năng kháng HP là do một số hợp chất khác, cần được nghiên cứu thêm.

Kết luận

Trong đề tài này, việc sử dụng dung môi methanol cho hiệu suất chiết cao hơn (lượng cao khô nhiều hơn ở hầu hết các dược liệu), nhưng dịch chiết từ dung môi ethyl acetat có tác dụng ức chế vi khuẩn HP cao hơn. Dịch chiết của 10/30 thảo dược có khả năng ức chế vi khuẩn mạnh, trong đó bao gồm đỗ rùng, đây là nghiên cứu đầu tiên được tiến hành trên loài dược liệu dân gian này. Khi phân tích thành phần các dịch chiết, một số dược liệu chứa các chất kháng khuẩn đã biết, phổ biến là berberin và quercetin, có thể liên quan đến khả năng ức chế HP của 8/10 loài. Cao chiết đỗ rùng (bằng cả 2 loại dung môi ethylacetate và methanol) và trầu không (bằng ethylacetate) không chứa các chất B, Q, G và có khả năng ức chế mạnh được tiếp tục nghiên cứu để tìm ra hoạt chất tiềm năng kháng HP khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D. Forman, D.G. Newek, F. Fullerton, J.W.G. Yarnell, A.R. Stacey, N. Wald, F. Sitas (1991), "Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: Evidence from a prospective investigation", *British Medical Journal*, **302**(6788), pp.1302-1305.
- [2] J.B. Park, L.L. Imamur and K. Kobashi (1996), "Kinetic studies of *Helicobacter pylori* urease inhibition by a novel proton pump inhibitor, rabeprazole", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **19**(2), pp.182-187.
- [3] G. Sorba, M. Bertinaria, A.D. Stilo, A. Gasco, M.M. Scaltrito, M.L. Brenciaglia, F. Dubini (2001), "Anti-*Helicobacter pylori* agents endowed with H2-antagonist properties", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **11**(3), pp.403-406.
- [4] T.B. Tran, S. Shiota, L.T. Nguyen, D.D.Q. Ho, H.H. Hoang, L. Ta, D.T. Trinh, T. Fujioka, Y. Yamaoka (2013), "The incidence of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Vietnam",

Journal of Clinical Gastroenterology, **47**(3), pp.233-238.

- [5] L. Cellini, E.D. Campi, M. Masulli, S.D. Bartolomeo, N. Allocati (1996), "Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*)", *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **13**(4), pp.277-279.
- [6] E.A. Bae, M.J. Han, N.J. Kim, D.H. Kim (1998), "Anti-*Helicobacter pylori* activity of herbal medicines", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **21**(9), pp.990-992.
- [7] Tran Thanh Ha, Nguyen Van Dau, Nguyen Thi Minh Nguyet, Do Thi Ha, Nguyen Dinh Tuan (2016), "Chemical constituents of n-butanol extract of *Polygonum barbatum* L. collected in Vietnam". *Journal of Medicinal Materials*, **21**(3), pp.189-193.
- [8] J.M. Whitmire, D.S. Merrell (2012), "Successful culture techniques for *Helicobacter* species: general culture techniques for *Helicobacter pylori*", *Methods in Molecular Biology*, **921**, pp.17-27.
- [9] R. Krausse, J. Bielenberg, W. Blaschek and U. Ullmann (2004), "In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of extractum liquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **54**(1), pp.243-246.
- [10] R. De, P. Kundu, S. Swarnakar, T. Ramamurthy, A. Chowdhury, G.B. Nair and A.K. Mukhopadhyay (2009), "Antimicrobial activity of curcumin against *Helicobacter pylori* isolates from India and during infections in mice", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **53**(4), pp.1592-597.
- [11] R. Murugan, T. Parimelazhagan (2014), "Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn. - An in vitro approach", *Journal of King Saud University - Science*, **26**(4), pp.267-275.
- [12] Vũ Nam (1995), *Góp phần nghiên cứu tác dụng của Chè dây trong điều trị loét hành tá tràng*, Luận án phó tiến sĩ khoa học y dược, Trường Đại học Y Hà Nội.
- [13] Vũ Nam (2000), "Bước đầu nghiên cứu tác dụng diệt *Helicobacter pylori* bằng hoạt chất toàn phần của lá trầu không trên thực nghiệm và trong viêm dạ dày mạn tính", *Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học*, Viện Y học cổ truyền Việt Nam.
- [14] K. Pundarikakshudu and H.N. Dave (2010), "Simultaneous determination of curcumin and berberine in their pure form and from the combined extracts of *Curcuma longa* and *Berberis aristata*", *International Journal of Applied Science and Engineering*, **8**(1), pp.19-26.