

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG VI SINH VẬT CỦA CAO CHIẾT ETHANOL LY TRÍCH TỪ THÂN RỄ LOÀI THIÊN NIÊN KIỆN PI-E (*HOMALOMENA PIERREANA*)

VĂN HỒNG THIÊN¹, LÊ BÍCH TRÂM¹, NGUYỄN THANH LAN¹, HỒ NGUYỄN HOÀNG YẾN¹,
LƯU HỒNG TRƯỜNG², NGUYỄN PHI NGÀ³, HÀ VĂN LONG⁴, NGUYỄN THỊ DIỆU HẠNH¹,
NGUYỄN NGỌC TUẤN¹, TRINH NGỌC NAM¹

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Tp. Hồ Chí Minh,

²Viện Sinh thái học Miền Nam, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam,

³Bộ môn Sinh thái học-Tiến hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. Hồ Chí Minh,

⁴Phòng Khoa học và hợp tác quốc tế, Vườn quốc gia Phú Quốc.

trinhngocnam@iuh.edu.vn

Tóm tắt. Nghiên cứu này đã xác định được mẫu nghiên cứu thu tại Vườn quốc gia Phú Quốc là loài *Homalomena pierreana*. Thông qua kỹ thuật sắc ký ghép khối phổ, 10 hợp chất thuộc nhóm sesquiterpene có trong cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. pierreana* đã được xác định. Ngoài ra, cao chiết ethanol từ mẫu nghiên cứu cũng cho thấy khả năng kháng lại 6 chủng vi khuẩn kiểm định là *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* và *Salmonella typhimurium*.

Từ khóa. *Homalomena pierreana*, Araceae, dịch chiết ethanol, kháng khuẩn.

IDENTIFICATION OF CHEMICAL COMPOUNDS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM ETHANOL EXTRACT OF *HOMALOMENA PIERREANA*

Abstract. This study has identified the specimens which collected in Phu Quoc National Park as *Homalomena pierreana*. Using Liquid chromatography–mass spectrometry (*LC-MS*) technique, we report ten sesquiterpenoids from the ethanol extract of *H. pierreana* rhizomes. Besides, the ethanol extract from rhizomes of the species also showed the inhibition of the growth of six tested bacteria, including *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, and *Salmonella typhimurium*.

Keywords. *Homalomena pierreana*, Araceae, ethanol extract, antibacterial activity.

1. GIỚI THIỆU

Thiên niên kiện (*Homalomena*) là một chi có chứa dược tính của họ Ráy (Araceae) và đã được sử dụng nhiều trong các bài thuốc dân gian [1-2]. Nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước cũng đã cho thấy thành phần hóa học cũng như công dụng kháng khuẩn, kháng oxy hóa của các hợp chất được chiết xuất từ các bộ phận của một số loài Thiên niên kiện [3-7]. Hiện nay, trên thế giới, chi *Homalomena* có khoảng 250 loài phân bố chủ yếu ở các khu vực nhiệt đới của Châu Á [8]. Ở Việt Nam, theo ghi nhận của nhiều tác giả, chi Thiên niên kiện hiện có 5 loài gồm: *H. conchinchinensis*, *H. occulta*, *H. pendula*, *H. pierreana* và *H. vietnamensis* [9-11].

Homalomena pierreana là một loài hiếm thuộc chi Thiên niên kiện (*Homalomena*) và được mô tả lần đầu bởi Engler and Krause (1912) [12] với mẫu vật được ghi nhận có ở khu vực Đông Dương. Các nghiên cứu tổng thể ở họ Ráy về sau ở Việt Nam đều không phát hiện lại loài này, các tác giả chỉ ghi nhận lại theo các tài liệu lịch sử và rất mơ hồ về vị trí phân bố. Theo đó, Phạm Hoàng Hộ (2000) [2] và Nguyễn Văn Dư (2017) [9] cho rằng, loài *H. pierreana* có khu vực phân bố ở phía Nam Việt Nam nhưng chưa biết rõ vị trí. Hơn nữa, tác giả đầu tiên của bài báo này trong quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu sinh về họ Ráy cũng đã trực tiếp khảo sát các tiêu bản về họ tại các phòng mẫu vật ở Việt Nam như: Viện Sinh thái tài nguyên sinh vật (HN), Đại học Khoa học Tự nhiên Hà Nội (HNU), Đại học Khoa học Tự nhiên

Tp. HCM (PHH), Viện Sinh học Nhiệt đới (VNM), Viện Sinh thái học Miền Nam (SGN) và đã xác nhận rằng, tiêu bản của loài *H. pierreana* không xuất hiện tại các phòng mẫu trên. Vì vậy, kết luận của Phạm Hoàng Hộ (2000) [2] và Nguyễn Văn Dư (2017) [9] về vị trí phân bố loài *H. pierreana* là hoàn toàn có cơ sở. Tuy nhiên, Ninh *et al.* (2015) [13] đã phân tích được 6 hợp chất từ cao chiết methanol của thân rễ loài *H. pierreana* thu được ở Vườn quốc gia Bạch mã (tỉnh Thừa Thiên Huế), một vị trí mà nhiều tài liệu chuyên khảo về thực vật nói chung cũng như họ Ráy nói riêng đều không nhắc đến [2, 9-11]. Ngoài ra, công bố của Ninh *et al.* (2015) [13] cũng không có hình ảnh minh họa, không có số hiệu mẫu cũng như không thông tin về bảo tàng lưu mẫu. Gần đây, Van *et al.* (2018) [11] cũng là tác giả đầu tiên trong bài báo này đã phát hiện lại loài *H. pierreana* ở VQG Phú Quốc, qua đó, tác giả đã ghi nhận lại chính xác vị trí phân bố và khẳng định rằng, hiện tại loài *H. pierreana* ở Việt Nam chỉ mới phát hiện có ở VQG Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang.

Cho đến thời điểm hiện tại, loài *H. pierreana* được xem là một loài hiếm thuộc chi Thiên niên kiện, một chi với nhiều loài đã được sử dụng trong y học [1-2], do vậy việc nghiên cứu thành phần hóa học cũng như khả năng kháng vi sinh vật là cần thiết để có thể ứng dụng vào thực tiễn của loài này trong tương lai.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

2.1.1. Mẫu thực vật

Loài Thiên niên kiện Pi-e (*H. Pierreana*) được thu tại Vườn quốc gia Phú Quốc, số hiệu là H.T. Van 202, thu ngày 22 tháng 10 năm 2018, tọa độ 10°21'01"N; 103°06'52"E, độ cao khoảng 83 m so với mặt nước biển

2.1.2. Chủng vi khuẩn

Sáu chủng vi khuẩn sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn trong nghiên cứu này gồm 2 chủng gram dương là *Bacillus subtilis* (ATCC 11774), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) và 4 chủng gram âm gồm *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076); *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311). Các chủng này được lưu tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công Nghiệp Tp. HCM với điều kiện -20°C trong 20% glycerol và chuyển sang môi trường Luria-Bertani broth ở 37°C trong 24 giờ trước khi thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Chụp ảnh tư liệu: ảnh chi tiết của các loài được chụp bằng máy ảnh kỹ thuật số hiệu CANON 600D kết hợp với ống kính Macro EF 100 mm và bộ nối 12, 20 và 36 mm.

Thu thập mẫu vật làm tiêu bản khô: quy trình thu mẫu và xử lý tiêu bản thực vật dựa trên tiêu chuẩn của Vườn thực vật Kew (Anh Quốc) [14].

2.2.2. Phương pháp định loại loài

Sử dụng phương pháp hình thái so sánh. Dựa trên các đặc điểm hình thái của các cơ quan sinh sản và sinh dưỡng của cây và so sánh với các công bố trước đây [2, 9-11] cũng như các mẫu vật lưu tại các bảo tàng Paris (P) và Kew (K).

2.2.3. Phương pháp tạo cao ethanol

Củ tươi bào mỏng, sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khi khối lượng không đổi. Đem xay thành bột dược liệu. Cân 100g bột dược liệu ngâm với 1000ml ethanol 99% trong 14 ngày ở nhiệt độ phòng. Lọc bỏ bã thu được dịch chiết. Cô cạn dịch chiết dưới áp suất chân không ở 60°C thu được dạng cao màu nâu [15]. Để đảm bảo cao chiết không còn ethanol, chúng tôi sử dụng thiết bị sấy thăng hoa để đuổi hết ethanol trong mẫu.

2.2.4. Phương pháp sắc lý ghép khối phổ

Mẫu cao chiết sau khi sấy thăng hoa được gửi phân tích sắc lý ghép khối phổ (LC/MS) tại Phòng phân tích trung tâm, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. HCM, sử dụng (1) hệ thống khối phổ MS/MS phân giải cao micrOTOF-QII Bruker Daltonic (Đức) có cấu tạo gồm: nguồn tạo ion theo kiểu ESI, bộ lọc ion gồm Dual Ion Funnel ghép với Hexapole, bộ cô lập khối Analytical Quadrupole, nguồn ion hóa nội CID, bộ tách khối phân giải cao TOF, đầu dò ion multichannel; (2) Các dữ liệu được xử lý trên phần mềm Data Analysis (Bruker, Đức); (3) Hệ thống sắc ký lỏng siêu cao áp Agilent 1200 (Hoa Kỳ) bao gồm: bơm đôi cao áp (trộn dòng áp suất cao), bộ tiêm mẫu tự động, lò cột; (4) bộ bơm mẫu trực tiếp bằng Syringe (kdScientifit, Hoa Kỳ).

Quy trình phân tách bằng sắc ký lỏng pha đảo được thực hiện với (1) Pha tĩnh: cột ACE3- C₁₈ (4.6 ×150mm, 3,5 μm), được ổn nhiệt ở 40 °C; (2) Pha động: chương trình pha động được thực hiện theo Bảng 1 tại tốc độ dòng 0,3 mL/phút. Trong đó, pha A là dung dịch nước khử ion chứa 0,1 % acid formic và pha B là Acetonitril chứa 0,1 % acid formic.

Bảng 1: Chương trình pha động trên cột C18

Thời gian(phút)	%Pha A*	% Pha B*
0	90	10
15	0	100
30	0	100
31	90	10
40	90	10

(*): tính theo % về thể tích

2.2.5. Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn

Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn từ cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. pierreana* được thực hiện theo Bauer *et al.* (1996) [16]. Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường LB Broth cho tới khi đạt được độ đục là 0.5 theo tiêu chuẩn McFarland. Dịch vi khuẩn này được sử dụng để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch nghiên cứu trong các dung môi khác nhau.

Hút 0,1ml dịch vi khuẩn được trải trên đĩa Petri chứa môi trường LB Agar theo phương pháp trải đĩa. Các đĩa giấy thấm vô trùng chứa 20ul dung dịch nghiên cứu (sử dụng mẫu gốc, mẫu pha loãng 2, 4 và 6 lần) được đặt lên bề mặt đĩa Petri đã dàn đều vi khuẩn. Tiếp theo, các đĩa Petri được để yên trong 4°C cho dung dịch nghiên cứu thấm vào môi trường thạch trong 2 giờ và sau đó được đem ủ ở 37°C trong 16-18 giờ. Đĩa kháng sinh Gentamycin (Nam Khoa, Việt Nam) được sử dụng như đối chứng dương cho các thí nghiệm. Làm song song mẫu chứng âm đối với các dung môi dung hòa tan dịch nghiên cứu.

Khả năng kháng khuẩn của các dung dịch nghiên cứu đối với các chủng vi khuẩn được đo bằng đường kính vòng vô khuẩn sau 16-18h nuôi ủ.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần. Sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) theo kiểm định LSD để kết luận sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức. Số liệu được thu thập và xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion 15.2 và phần mềm Excel 2010 dùng để tính toán trung bình và độ lệch chuẩn của các phép đo.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả định danh

Homalomena pierreana Engl. & K. Krause, 1912. Pflanzenr. Arac. 75 (IV. 23Da): 34, fig. 13. (Hình 1).

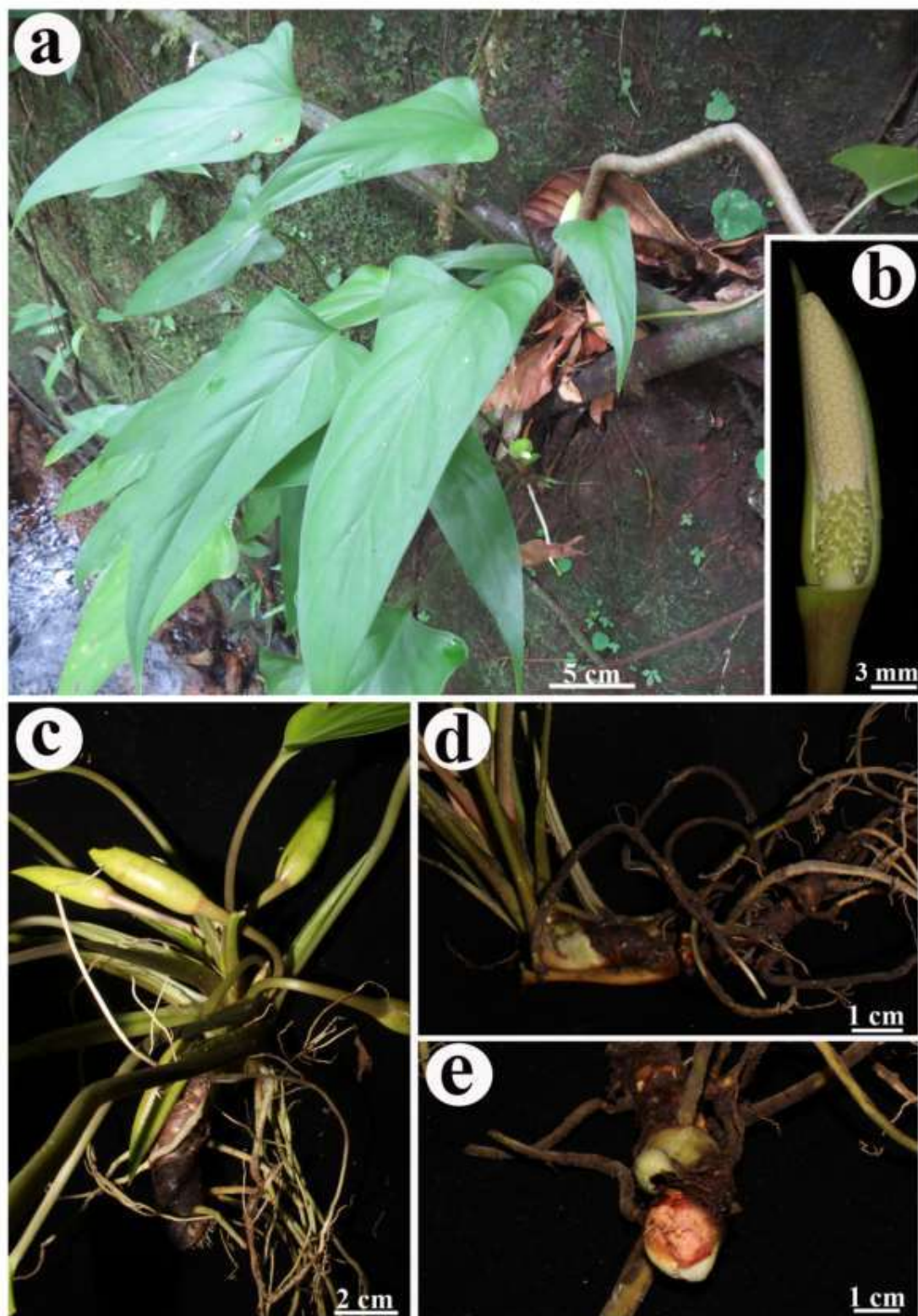
Cây thân thảo thường xanh, cao khoảng 20 cm. Thân củ dài 8,0–14 cm, rộng 1,5–2,0 cm. Lá 6–8 lá. Cuống lá dài 10–15 cm, rộng khoảng 0,4 cm, màu xanh xám, đoạn $\frac{1}{2}$ tính từ gốc thường nằm ngang, đoạn còn lại uốn cong và hướng theo chiều thẳng đứng. Phiến lá dài 8,0–10,0 cm, rộng 3,0–5,0 cm, hình tam giác hay hình mác, nhọn dần ở đỉnh, gốc tù hay tròn, màu xanh lục nhạt ở mặt dưới, đậm hơn ở mặt trên, gân lá lõm phía xa trục và lồi ở gần trục, các gân bên xuất phát từ gân giữa và hướng ra mép lá. Bông mo 2, xuất hiện ở nách lá. Cuống bông mo ngắn hơn nhiều so với cuống lá, dài 4–5 cm, rộng khoảng 5 mm, màu xám đến nâu. Mo dài hơn bông nạc, thường khép kín, dài 3–4 cm, rộng khoảng 1 cm, màu xanh lục lúc non, vàng nhạt lúc hoa nở, không phân biệt giữa phiến và ống, hình ê lip đến hình thuyền, đỉnh nhọn. Bông nạc ngắn hơn mo, dài 2,5–3,0 cm, có cuống dài khoảng 3 mm, hình nón, màu trắng xanh; phần cái dài khoảng 0,8 cm, hình trụ; bầu hình chai, 3 ô, màu xanh lục nhạt, cao khoảng 2 mm, đường kính khoảng 1 mm, xuất hiện nhiều hoa bất thụ xen vào giữa các bầu, hoa bất thụ màu trắng, hình chùy, noãn nhiều, kích thước nhỏ, đính trụ; vòi nhụy dài 0,5 mm; núm nhụy tròn, lồi, đường kính khoảng 0,5 mm, màu xanh nhạt. Phần đực dài 2,0–2,5 cm, hình nón dài, hơn uốn cong ở đỉnh, đỉnh hơi nhọn, màu trắng đục, hoa sắp xếp dày, bao phần mở ra bằng các khe ở gần đỉnh. Ra hoa: tháng 8–9.

Mẫu chuẩn: *Pierre sine num.* (P, đã xem hình quét), Đông Dương.

Đặc điểm sinh thái: mọc trên đá dọc theo suối ở rừng ẩm thường xanh.

Phân bố: Vườn quốc gia Phú Quốc, Kiên Giang.

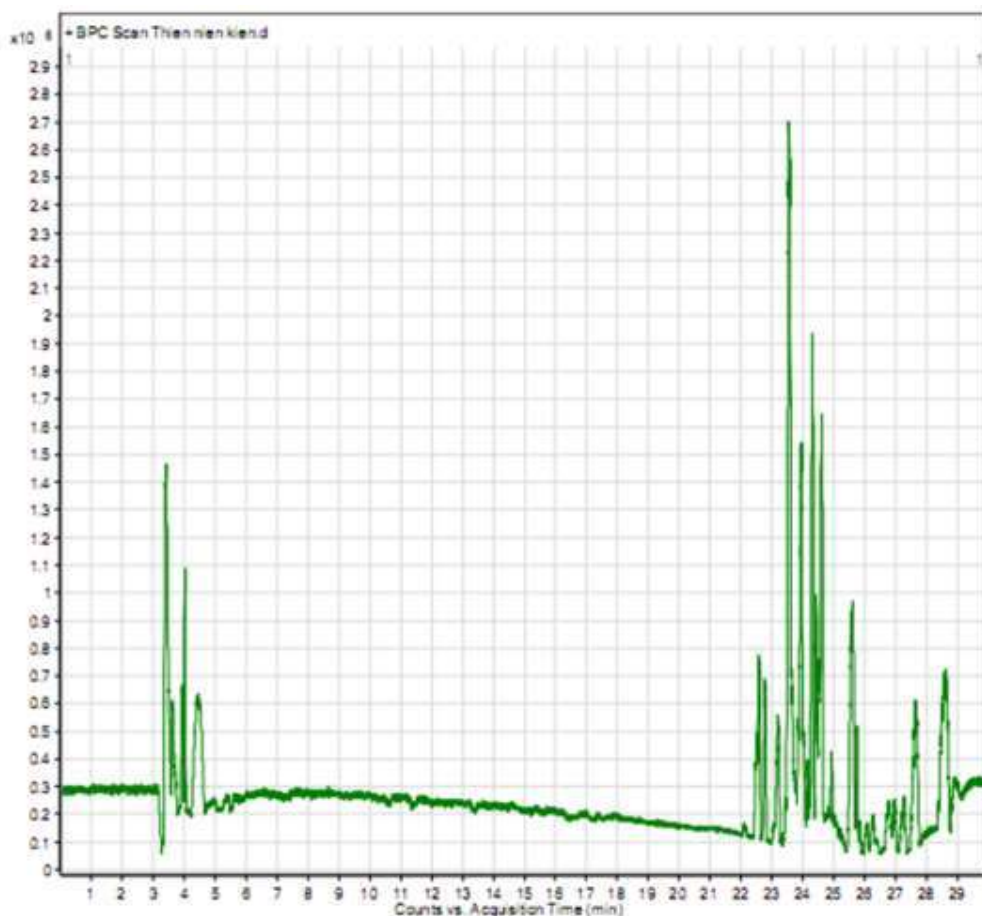
Mẫu nghiên cứu: *Văn Hồng Thiên và Hà Văn Long H.T.Van 202* (SGN!), Vườn quốc gia Phú Quốc, Kiên Giang, ngày 22 tháng 10 năm 2018, tọa độ 10°21'01"N; 103°06'52"E độ cao khoảng 83 m so với mặt nước biển; *H.T. Van 108* (SGN!), Vườn quốc gia Phú Quốc, Kiên Giang, ngày 14 tháng 8 năm 2015; *Pierre sine num.* (P, đã xem hình quét), Đông Dương.



Hình 1: *Homalomena pierreana*. (a): cây ngoài thực địa; (b): bông nạc; (c): mo; (d) thân rễ; (e): thân rễ cắt ngang.

Hiện nay, việc nghiên cứu các chất có hoạt tính sinh học ở thực vật đang ngày một trở nên phổ biến. Tuy nhiên việc định danh một cách chính xác và bài bản đối với đối tượng nghiên cứu hiện đang bị xem nhẹ, điều này có thể sẽ dẫn đến việc xác định nhầm đối tượng, đặc biệt đối với nhiều loài trong cùng một chi ở thực vật thường có các đặc điểm hình thái tương tự nhau. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, dựa trên kết quả phân tích chi tiết đặc điểm hình thái và so sánh với mẫu chuẩn (được lưu tại bảo tàng mẫu Paris) cũng như nhiều công bố trước đây về loài *H. pierreana* nói riêng và chi *Homalomena* nói chung [2, 9-11], chúng tôi xác định mẫu nghiên cứu (H.T. Van 202) chính là loài *H. pierreana*.

3.2. Kết quả xác định thành phần hóa học



Hình 2: Sắc ký đồ cao chiết ethanol của mẫu nghiên cứu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ.

Dựa trên kết quả sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC/MS), khối lượng phân tử được ghi nhận và tiến hành so sánh với các công bố trước đây về các loài thuộc chi Thiên niên kiện (*Homalomena*), từ đó, chúng tôi đã dự đoán được 10 hợp chất (thuộc nhóm sesquiterpene) có khối lượng phân tử tương đương các hợp chất đã từng công bố (Bảng 1). Theo đó, 2 chất là Homalomenol A và 1 β ,4 β ,7 α -trihydroxy-eudesmane có trong thân rễ của loài *H. aromatica* [17], trong khi 1 α , 4 β , 7 β -eudesmanetriol là một hợp chất mới được Wong *et al.* (2012) [18] phát hiện có ở loài *H. sagittifolia*; bảy chất còn lại có trong thân rễ của loài *H. occulta* [19-20].

Kết quả thể hiện ở Bảng 1 là hợp lý vì các chất mà chúng tôi so sánh với các công bố trước đây đều tập trung ở các thời gian lưu là 3,652 phút cũng như khoảng từ 22,497 đến 27,619 phút. Đối chiếu với sắc ký đồ thể hiện ở Hình 2 thì các chất chủ yếu tập trung tại thời gian lưu từ 22,497 đến 27,619 phút, chứng tỏ các lớp chất có độ phân cực trung bình; tương ứng với các hợp chất từ 2-10 (Bảng 2). thành phần các chất này chủ yếu là các hợp chất sesquiterpene. Trong khi đó ở thời gian lưu 3,652 phút, chúng tôi chỉ

phát hiện được hợp chất 1 có độ phân cực cao hơn so với các chất còn lại và đây cũng là hợp chất sesquiterpene.

Bảng 2: Hợp chất hóa học tìm thấy trong cao ethanol của thân rễ loài *H. pierreana*.

STT	Tên chất	Thời gian lưu	Khối lượng phân tử	Tham khảo
1	Homalomenol A	3.652	202	[17]
2	1 β ,4 β ,7 α -trihydroxy-eudesmane	22.497	236	[17]
3	7-Epi-oplopanone	22.999	274	[20]
4	1 α , 4 β , 7 β -eudesmanetriol	23.176	177	[18]
5	4-Epi-oplopananol	23.507	276	[20]
6	Homalomenol E	24.376	238	[19]
7	4-Acetoxyoplopananol	24.912	328	[20]
8	5,7-Diepi-2a-hydroxyoplopanone	25.581	300	[20]
9	Homalomenol F	27.236	353	[19]
10	5,7-Diepi-2a-acetoxyoplopanone	27.619	342	[20]

Cho đến thời điểm hiện tại, trong chi *Homalomena*, loài được nghiên cứu về thành phần hóa học nhiều nhất là *H. oculata* bởi đây là loài có phân bố rộng và được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền ở nhiều nước Châu Á [2, 9-10, 19]. Trong khi đó ở Việt Nam, thành phần hóa học của các loài thuộc chi *Homalomena* cũng được nghiên cứu bởi một số tác giả. Chẳng hạn, Sung *et al.* (1992) [17] đã phát hiện 3 hợp chất mới thuộc nhóm sesquiterpene từ cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. aromatica* là 1 β ,4 β ,7 α -trihydroxy-eudesmane, homalomenol A và homalomenol B. Năm 2015, Ninh Khắc Bản và cộng sự đã xác định 6 hợp chất thuộc nhóm sesquiterpene từ cao chiết methanol của thân rễ loài *H. pierreana* [13]. Gần đây, Văn Hồng Thiện và cộng sự (2015) [21] cũng cho thấy 9 hợp chất có trong cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. cochinchinensis*. Tuy nhiên, như đề cập ở phần 3.1, hiện các nghiên cứu về hoạt chất sinh học ở thực vật đang xem nhẹ việc định danh nguồn mẫu, điều này rất có thể dẫn đến việc xác định nhầm đối tượng nghiên cứu. Cụ thể, theo các tài liệu lịch sử về thực vật học nói chung và chuyên khảo về họ Ráy nói riêng thì cho đến nay, loài *H. aromatica* không có ở Việt Nam mà chỉ phát hiện có ở Trung Quốc, Thái Lan, Ấn Độ và Bangladesh [2, 8-11, 22]. Tương tự, loài *H. pierreana* mới chỉ phát hiện có ở phía Nam Việt Nam là vườn quốc gia Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang [2, 9-11].

Như vậy, dựa trên kết quả sắc ký ghép khối phổ từ nghiên cứu này và nhiều nghiên cứu trước đây có thể kết luận rằng, các hợp chất hóa học có trong thân rễ các loài *Homalomena* đa phần thuộc nhóm sesquiterpene.

3.3. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng khuẩn

Kết quả nghiên cứu khả năng kháng vi sinh vật từ cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. pierreana* cho thấy, cao chiết đã có khả năng kháng lại 6 loại vi khuẩn kiểm định (Hình 3 và Bảng 3). Trong đó, gồm 2 chủng gram dương (*B. cereus* và *S. aureus*) và 4 chủng gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* và *S. typhimurium*).

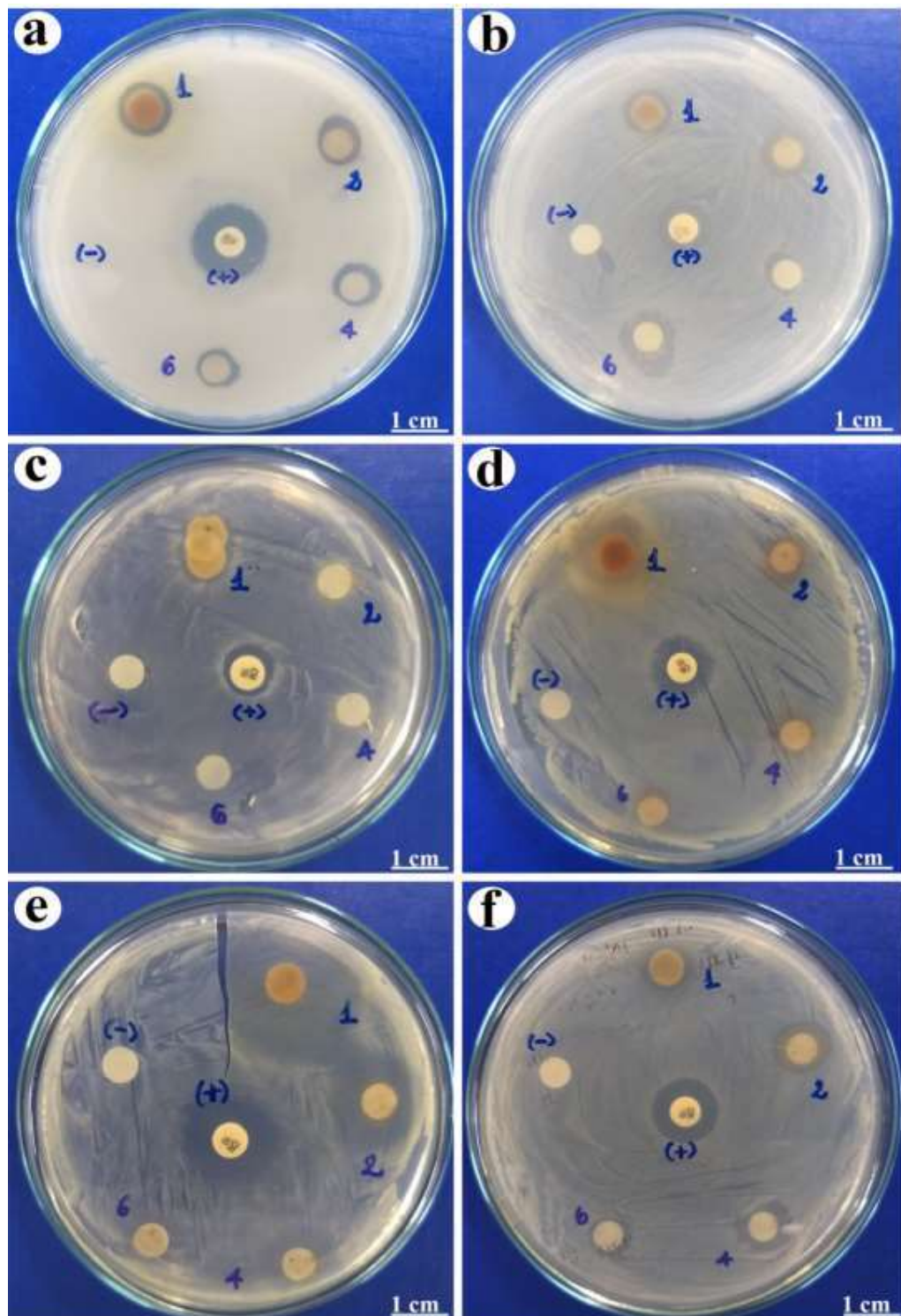
Bảng 3: Kích thước vòng kháng khuẩn của cao chiết ethanol từ thân rễ loài *H. pierreana* đối với 6 chủng vi khuẩn kiểm định.

Vi khuẩn kiểm định	Kích thước vòng kháng khuẩn (mm)			
	Mẫu gốc	Pha loãng 2 lần	Pha loãng 4 lần	Pha loãng 6 lần
<i>B. cereus</i>	9,0 ± 1,0 ^b	8,2 ± 0,3 ^{ab}	8,0 ± 1,0 ^{ab}	7,0 ± 0,5 ^a
<i>E. coli</i>	8,2 ± 0,3 ^a	9,3 ± 0,5 ^b	7,2 ± 0,3 ^a	10,2 ± 0,8 ^b
<i>P. aeruginosa</i>	10,0 ± 1,0	Không kháng	Không kháng	Không kháng
<i>S. enteritidis</i>	14,6 ± 0,5 ^c	7,2 ± 0,3 ^a	8,3 ± 0,5 ^b	7,3 ± 0,5 ^a
<i>S. typhimurium</i>	18,2 ± 0,3 ^b	11,2 ± 0,8 ^a	10,0 ± 1,0 ^a	Không kháng
<i>S. aureus</i>	8,2 ± 0,3 ^b	9,5 ± 0,5 ^c	8,7 ± 0,3 ^b	7,3 ± 0,5 ^a

Dựa trên kết quả Hình 3 và Bảng 3 cho thấy, cao chiết từ thân rễ loài *H. pierreana* cũng như các mẫu pha loãng từ cao chiết này hầu hết đều cho kết quả kháng lại 6 chủng vi khuẩn kiểm định. Theo đó, 2 trường hợp ở chi *Salmonella* cho kích thước vòng kháng khuẩn lớn nhưng chưa hoàn toàn triệt để (độ sáng của vòng kháng khuẩn không bằng đĩa chứng dương), trong đó (1) *S. typhimurium* có vòng kháng khuẩn trung bình lần lượt là 18,2 mm, 11,2 mm và 10,0mm tương ứng với mẫu gốc, pha loãng 2 và 4 lần, trong khi ở độ pha loãng 6 lần thì không kháng; (2) *S. enteritidis* với kích thước trung bình của vòng kháng khuẩn lần lượt là 14,6 mm, 7,2 mm, 8,3 mm và 7,3 mm tương ứng với mẫu gốc, pha loãng 2, 4 và 6 lần.

Trong khi đó, 4 trường hợp còn lại có kết quả kháng khuẩn triệt để gồm (1) *Bacillus cereus* với kích thước vòng kháng khuẩn giảm dần theo nồng độ mẫu cho vào, cụ thể kích thước trung bình vòng kháng khuẩn là 9,0 mm, 8,2 mm, 8,0 mm, 7,0 mm tương ứng với mẫu gốc, pha loãng 2, 4 và 6 lần; (2) *Staphylococcus aureus* có kích thước trung bình của vòng kháng khuẩn lớn nhất ở độ pha loãng 2 lần (9,5mm) và 4 lần (8,7 mm), trong khi nhỏ hơn ở mẫu gốc (8,2 mm) và độ pha loãng 6 lần (7,3 mm); (3) *Escherichia coli* cho kết quả kháng cao nhất ở độ pha loãng 6 lần (10,2 mm), trong khi ở mẫu gốc, pha loãng 2 và 4 lần tương ứng với kích thước là 8,2 mm, 9,3 mm, 7,2 mm; trong khi đó, (4) *Pseudomonas aeruginosa* chỉ cho kết quả kháng đối với mẫu gốc với kích thước vòng kháng khuẩn là 10,0 mm.

Trước đây, đã có một số nghiên cứu cũng cho thấy khả năng kháng khuẩn từ cao chiết ethanol hoặc methanol từ thân rễ của một số loài *Homalomena*. Chẳng hạn, Liliwirianis *et al.* (2011) [23] đã cho thấy dịch chiết methanol từ thân rễ loài *H. propinque* thu ở Khu bảo tồn thiên nhiên Pahang, Malaysia có khả năng kháng lại 3 chủng vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* và *Staphylococcus aureus*. Tương tự, Wong *et al.* (2012) [18] cũng cho thấy cao chiết ethanol từ thân rễ loài *H. sagittifolia* ở Trung Quốc có khả năng kháng 2 chủng vi khuẩn gram dương là *Bacillus subtilis* và *Staphylococcus aureus* cũng như 4 chủng vi khuẩn gram âm là *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* và *Pseudomonas stutzeri*.



Hình 3: Kết quả kháng khuẩn từ dịch cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. Pierreana*. Chú thích: (a): *Bacillus cereus*; (b): *Escherichia coli*; (c): *Pseudomonas aeruginosa*; (d): *Salmonella enteritidis*; (e): *Salmonella typhimurium*; (f): *Staphylococcus aureus*. Các số 1, 2, 4, 6 tương ứng với mẫu gốc, pha loãng 2, 4 và 6 lần. Dấu (+) là chứng dương, (-) là chứng âm.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã xác định được 10 hợp chất thuộc nhóm sesquiterpene từ cao chiết ethanol của thân rễ loài *H. pierreana* là: (1) Homalomenol A, (2) 1 β ,4 β ,7 α -trihydroxy-eudesmane, (3) 7-Epi-oplopanone, (4) 1 α , 4 β , 7 β -eudesmanetriol, (5) 4-Epi-oplopananol, (6) Homalomenol E, (7) 4-acetoxyplopananol, (8) 5,7-Diepi-2a-hydroxyplopanone, (9) Homalomenol F, (10) 5,7-Diepi-2a-acetoxyplopanone. Ngoài ra, cao chiết từ mẫu nghiên cứu cũng cho thấy khả năng kháng lại 6 chủng vi khuẩn kiểm định là *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*.

LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu này là một phần trong đề tài nghiên cứu khoa học cấp Trường (mã số 184.TP12) mà tác giả đầu tiên trong bài báo này là chủ nhiệm. Do đó, chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Công Nghiệp Tp. Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí cho các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi., Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nxb. Y học, 2006.
2. Phạm Hoàng Hộ., Cây cỏ Việt Nam. Nxb. Trẻ, 2000.
3. Y.M. Hu., C. Liu, K.W. Cheng., H.H.Y. Sung., L.D. Williams., Z.L. Yang., W.C. Ye., Sesquiterpenoids from *Homalomena occulta* affect osteoblast proliferation, differentiation and mineralization in vitro. *Phytochemistry*, 69: p. 2367-2373, 2008.
4. G.G.F Nascimento., J. Locatelli., P.C Freitas., G.L Silva., Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: p. 247-256, 2000.
5. H.T. Van., N. Nguyen-Phi., H.T. Luu., *Homalomena cochinchinensis*: testing molecular markers for its taxonomic identity in the Araceae and identification of some chemical compounds. *Journal of Biotechnology*, 13: p. 1329-1334, 2015.
6. J.L. Yang., Y.M. Zhao., Y.P. Shi., Sesquiterpenoids from the Rhizomes of *Homalomena occulta*. *Nat. Prod. Bioprospect*, 6: p. 211-216, 2016.
7. M. Kehie., P. Kehie., N.L. Pfoze., Phytochemical and ethnopharmacological overview of endangered *Homalomena aromatica* Schott: An aromatic medicinal herb of Northeast India. *Indian journal of Natural products and resources*, 8: p. 18-31, 2017.
8. P.C. Boyce., D. Sookchaloem., W.L.A. Hettterscheid., G. Gusman., N. Jacobsen., T. Idei., V.D. Nguyen., Araceae. *The Flora of Thailand*, 11: p. 101-321, 2012.
9. Nguyễn Văn Dư., Thực vật chí Việt Nam, họ Ráy-Araceae, Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, pp. 114-125, 2017.
10. Văn Hồng Thiện., Xây dựng cây phá hệ cho họ Ráy ở khu vực phía Nam Việt Nam dựa trên hình thái và marker phân tử. Luận án tiến sĩ Sinh thái học, Viện Hàn lâm khoa học Công nghệ Việt Nam, 2017.
11. H.T. Van., Nguyen-Phi. N., H.T. Luu., New distributions of three Aroids species (Araceae) in Southern Vietnam. *Journal of Science, HCMC University of Education*, 15: p. 66-79, 2018.
12. A. Engler., K. Krause., Araceae-Philodendroideae-Philodendreae, *Allgemeiner Teil, Homalomeninae und Schismatoglottidinae*, pp. 1-134 in *Pflanzenreich*, vol. 55 (IV.23Da), ed. A. Engler. Leipzig: Engelmann, 1912.
13. K.B. Ninh., T.N. Ninh, H.G. Vu., M.L. Tran., Q.L. Le., T.H.H. Tran., X.C. Nguyen., H.N. Nguyen., R. Jacinto., V.K. Huynh., T.A. Tran., V.K. Phan., V.M. Chau., Sesquiterpenoids from *Homalomena pierreana* Engl. *Journal of Science and Technology*, 53: p. 305-310, 2015.
14. D. Bridson., L. Forman., *The Herbarium Handbook-Third Edition*, Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 1999.

- 170 XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG VI SINH VẬT CỦA CAO CHIẾT ETHANOL LY TRÍCH TỪ THÂN RỄ LOÀI THIÊN NIÊN KIẾN PI-E (HOMALOMENA PIERREANA)
15. A. Altemimi., N. Lakhssassi., A. Baharlouei., D.G. Watson., D.A. Lightfoot., Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. Plants, 6: p. 1-23, 2017.
 16. A.W. Bauer., W.M. Kirby., J.C. Sherris., M. Turck., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol, 45: p. 493- 496, 1996.
 17. T.V. Sung., B. Steffan., W. Steglich., G. Klebe., G. Adam., Sesquiterpenoids from the roots of Homalomena aromatica. Phytochemistry, 31: p. 3515-3520, 1992.
 18. K.C. Wong., A. Hamid, I.M. Eldeen., M.Z. Asmawi., H.S. Abdillahi., A new sesquiterpenoid from the rhizomes of Homalomena sagittifolia. Natural product research, 26: p. 850-858, 2012.
 19. Y.M. Hu., C. Liu., K.W. Cheng., H.H.Y. Sung., L.D. Williams., Z.L. Yang., W.C. Ye., Sesquiterpenoids from Homalomena occulta affect osteoblast proliferation, differentiation and mineralization in vitro. Phytochemistry, 69: p. 2367-2373, 2008.
 20. J.L. Yang., Y.M. Zhao., Y.P. Shi., Sesquiterpenoids from the Rhizomes of Homalomena occulta, Nat. Prod. Bioprospect, 6: p. 211-216, 2016.
 21. Văn Hồng Thiện, Nguyễn Phi Ngà, Lưu Hồng Trường, Homalomena cochinchinensis (họ Araceae): thử nghiệm marker phân tử và phân tích một số thành phần hóa học. Tạp chí Công nghệ Sinh học, 13: p. 1329-1334, 2015.
 22. F. Gagnepain., Aracées. In: Lecomte H. (ed) Flore générale de l'Indo-Chine, 6: p. 1075-1196. Paris, 1942.
 23. N. Liliwirianis., Z.W.M.Z. Wan., K. Jamaluddin., A.K. Shaikh., Antimicrobial Activity of Plant Extracts against Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus and Escherichia coli. E-Journal of Chemistry, 8: p. 282-284, 2011.

Ngày nhận bài: 18/02/2019

Ngày chấp nhận đăng: 10/04/2019