

ĐẶC TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CÁC CHẤT PHENOLIC Ở MỘT SỐ LOÀI CÂY THUỘC CHI *GARCINIA L.*

TRƯƠNG VĂN CHÂU

Trường đại học Sư phạm Hà Nội II

TRẦN HỒNG QUANG, ĐỖ NGỌC LIÊN

Đại học Quốc Gia Hà Nội

Việt Nam là một nước nhiệt đới có nguồn tài nguyên thực vật phong phú, rất đa dạng, chứa các hợp chất thứ sinh như tecpen, alcaloit, tanin, glycozit, flavonoit (thuộc nhóm chất phenolic) v.v.. Các hợp chất thứ sinh này là các sản phẩm thiên nhiên có hoạt tính sinh học cao, có rất nhiều ứng dụng trong nông nghiệp, công nghiệp, đặc biệt là trong y học. Việc điều tra và khai thác tiềm năng của các chất thứ sinh từ tài nguyên thực vật đã và đang được đẩy mạnh, nhất là theo hướng tìm hiểu cơ chế tác dụng hoá học và sinh dược học của các chất có hoạt tính sinh học trong các bài thuốc y học cổ truyền. Xuất phát từ mục tiêu trên, chúng tôi đã nghiên cứu thành phần các chất phenolic ở một số loài thuộc chi *Garcinia L.* và khả năng kháng khuẩn của chúng đối với một số vi khuẩn gây nhiễm trùng có tính kháng thuốc kháng sinh cao như *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các nguyên liệu như lá, vỏ quả, vỏ cây, thịt quả của cây bứa rừng (*Garcinia oblongifolia* Champ.ex Benth) được thu hái ở Phú Thọ, Thanh Hoá và của cây măng cụt (*Garcinia mangostana, L.*) [1, 3] được mua ở chợ, có nguồn gốc Nam Bộ, đều thuộc họ Bứa (Clusiaceae). Các nguyên liệu trên sau khi thu hái đều được cố định trong các dung môi chiết rút như êtanol hoặc mêtanol.

Các hợp chất thứ sinh như alcaloit, cumarin, flavonoit, glycozit, tanin đều được định tính bằng các thuốc thử đặc hiệu tương ứng như Dragendorf-Van-Mayer, NaOH, FeCl₃, chất thử Keller-Killian, indigocarmin [6]. Các hoá chất

khác được mua của các hãng Sigma, Merck, Prolabo.

Thành phần các hợp chất phenolic được phân tích bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng trên phiến kính tráng silicagen của hãng Merck [4, 6] với hệ dung môi toluen-êtylaxêtat-axêton-axit phoócmic, tỷ lệ theo thể tích (5:2:2:1) hoặc (5:3:1:1) hoặc hệ dung môi clorophoóc-êtylaxêtat-mêtanol (1:24: 4), clorophoóc-mêtanol (19:1) [4, 6]. Các chủng vi sinh vật được dùng trong xét nghiệm là *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* có tính kháng thuốc kháng sinh cao do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và bộ môn Vi sinh vật của Trường đại học Khoa học tự nhiên cung cấp.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khả năng chiết rút các hợp chất phenolic của các dung môi

Các mẫu thực vật tươi sau khi thu hái được chiết rút bằng nước cất hoặc ngâm kiệt hàng tuần trong êtanol hoặc mêtanol để chiết các hợp chất phenolic. Kết quả cho thấy, khi sử dụng các phương pháp định tính alcaloit (thuốc thử Dragendorf-Van-Meyer), định tính flavonoit (thuốc thử Shinoda hoặc dung dịch FeCl₃ trong kiềm) và các thuốc thử phát hiện glycozit, tanin, cumarin, chúng tôi đều phát hiện được sự có mặt của flavonoit trong dịch chiết bằng êtanol và mêtanol. Hầu như không phát hiện thấy các chất alcaloit, cumarin, glycozit và tanin ở các nguyên liệu từ cây bứa. Trong khi đó, các dịch chiết etanol và metanol của các nguyên liệu vỏ măng cụt đều chứa không chỉ riêng flavonoit mà còn có alcaloit, cumarin và cả tanin.

Kết quả trên cho thấy trong các nguyên liệu từ cây bứa chủ yếu chứa các hợp chất flavonoid, trong khi vỏ quả măng cụt và một số loài khác thuộc chi *Garcinia*, ngoài flavonoid, còn chứa nhiều hợp chất thứ sinh khác. Thêm vào đó, loại dung môi tốt cho việc chiết rút các hợp chất thứ sinh thuộc dạng phenolic là êtanol và mêtanol.

2. Phân tích thành phần các hợp chất phenolic bằng sắc ký lớp mỏng silicagel

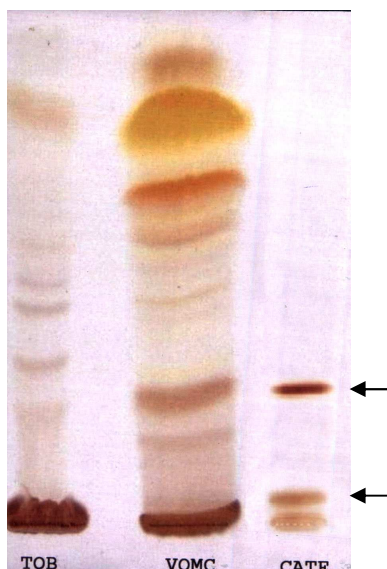
Các lớp mỏng silicagel (hãng Merck, CHLB Đức) có bề dày khoảng 3 mm đã được tráng trên bản kính dày 3 mm (kích thước 15cm × 8cm) và được sử dụng trong phân tích các hợp chất phenolic với các hệ dung môi như đã mô tả ở mục phương pháp nghiên cứu, và kỹ thuật sắc ký lớp mỏng theo chiều chạy dung môi từ dưới lên, trong bộ can thủy tinh bão hoà dung môi đã được áp dụng.

Các kết quả thu được khi sử dụng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng để phân tích thành phần các hợp chất phenolic cho thấy, trong ba hệ dung môi như toluen-êtylaxetat-axêton-axit phoóc-mic; clorophoóc-êtanol-nước; clorophoóc-mêtanol như đã mô tả trong phần phương pháp, chỉ có hệ dung môi đầu tiên cho kết quả phân tích

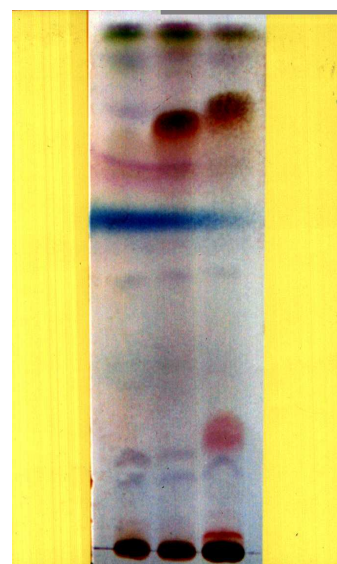
tốt nhất. Cụ thể là, đối với dịch chiết của vỏ măng cụt, chúng tôi đã thu được ít nhất là 16 băng các hợp chất phenolic, trong khi đối với dịch chiết của vỏ quả và thịt quả bứa, số lượng các băng hợp chất phenolic có 8 băng ít hơn (hình 1). Hình 2 cho biết ảnh chụp sắc đồ lớp mỏng silicagel phân tích các chất phenolic từ lá, vỏ cây và vỏ quả bứa. Tuy nhiên, cũng trên cùng sắc ký đồ này, ở nguyên liệu vỏ và thịt quả bứa xuất hiện thêm hai băng mới ($R_f = 0,202$ và $R_f = 0,464$) rất rõ nhưng không có mặt ở vỏ quả măng cụt. Trong khi đó, các băng có $R_f = 0,583$, $R_f = 0,667$; $0,669$ và $0,94$ lại xuất hiện rõ ở vỏ quả măng cụt, nhưng không có mặt ở vỏ quả và thịt quả bứa. Khi sử dụng chất chuẩn là epicatechin và catechin, hai chất phenolic điển hình thuộc dạng flavonoid có mặt ở nhiều loại cây, trong đó có chè xanh [5, 6], chúng tôi cũng phát hiện chất phenolic này có mặt ở vỏ quả bứa và vỏ quả măng cụt (hình 1 và hình 2).

3. Khả năng kìm hãm sự phát triển của *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* của các hợp chất phenolic ở cây măng cụt và cây bứa

Các chủng vi khuẩn mũ xanh (*Pseudomonas aeruginosa*) và tụ cầu vàng (*Staphylococcus*



Hình 1. Ảnh chụp sắc ký đồ lớp mỏng silicagel phân tích hợp chất phenolic từ thịt quả bứa (TQB) và vỏ quả măng cụt (VQMC). Trên ảnh (mũi tên) ký hiệu CATE là chất chuẩn catechin. Hiện màu bằng iot



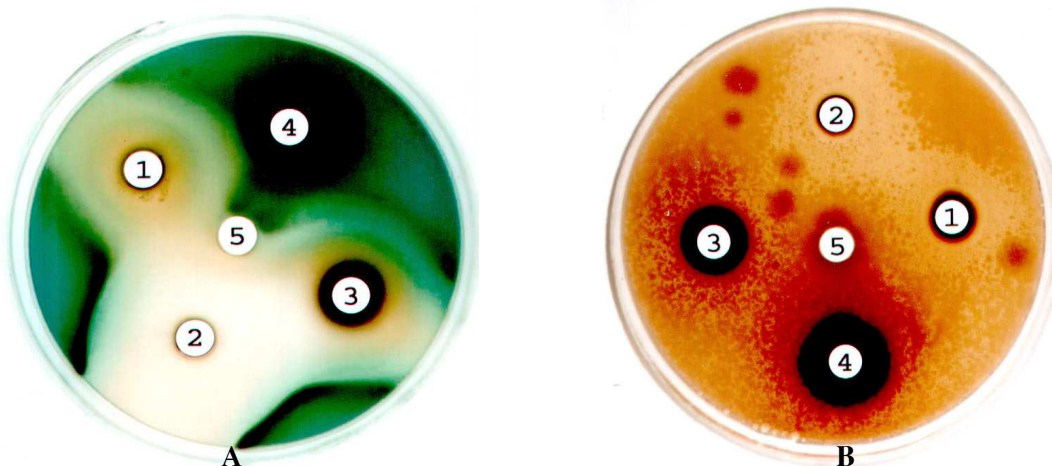
Hình 2. Ảnh chụp sắc ký đồ lớp mỏng silicagel phân tích hợp chất phenolic từ nguyên liệu lá bứa (1), vỏ cây bứa (2), vỏ quả bứa (3). Hiện màu bằng vanilin trong H_2SO_4 10%.

aureus) được phân lập từ các bệnh nhân bị nhiễm trùng, đặc biệt là bệnh nhân bị bỏng, đã được chứng minh là có mức độ kháng thuốc kháng sinh rất cao, ngay cả đối với các thuốc kháng sinh thế hệ mới [2, 8] được sử dụng để thử nghiệm với các chất phenolic tách chiết từ cây bứa và cây măng cụt. Nồng độ của các chất phenolic từ nguyên liệu thực vật được sử dụng đồng đều cho mỗi giếng trên đĩa thạch thí nghiệm là 1mg/100 microlit đệm PB.

Kết quả phân tích khả năng ức chế sự sinh trưởng và phát triển của hai loại vi khuẩn tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*-vi khuẩn gram dương) và trực khuẩn mủ xanh (*Pseudomonas aeruginosa*-i khuẩn gram âm) đã cho thấy, các chất chiết từ vỏ quả của hai loài thuộc chi

Garcinia có khả năng kìm hãm mạnh sự phát triển của hai loại vi khuẩn này (hình 3).

Nhìn vào hình 3-A, chúng ta thấy các chất phenolic chiết từ vỏ quả bứa (giếng số 2), từ lá bứa (giếng số 1), từ thịt quả bứa (giếng số 3) và vỏ quả măng cụt (giếng số 4) đều có khả năng kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Riêng chất phenolic từ vỏ quả bứa có tác dụng kìm hãm mạnh nhất, tiếp theo là chất phenolic từ lá bứa và thịt quả bứa. Khả năng kìm hãm của các chất phenolic từ vỏ quả măng cụt (giếng 4) cũng tương đương với chất phenolic từ lá bứa. Giếng thứ 5 là đối chứng (chỉ chứa đệm PB) cho thấy tụ cầu vàng và trực khuẩn mủ xanh vẫn phát triển và hoàn toàn không bị kìm hãm (hình 3A và 3B).



Hình 3. Ảnh chụp phân tích khả năng kìm hãm sự phát triển của *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* bằng các chất thứ sinh được chiết từ vỏ quả măng cụt và vỏ quả bứa.

A-khả năng kìm hãm sự phát triển của *Staphylococcus aureus*. B-khả năng kìm hãm sự phát triển của *Pseudomonas aeruginosa*. Các số hiệu 1, 2, 3, 4, 5 của các giếng thí nghiệm được giải thích trong bài

Điều đáng chú ý là, khả năng kìm hãm sự phát triển của các vi khuẩn gây nhiễm trùng của các chất phenolic từ bứa và măng cụt rất mạnh đối với trực khuẩn mủ xanh sau 24 giờ và 36 giờ nuôi cấy (hình 3B). Ảnh chụp cho thấy rõ vị trí giếng 2 (chứa chất phenolic từ vỏ quả bứa) hoàn toàn không xuất hiện khuẩn lạc xanh của *Pseudomonas aeruginosa*. Tiếp theo đó là giếng 1 và giếng 3 cũng là sản phẩm phenolic tách từ lá và từ thịt quả bứa. Ở giếng thứ 4, chất phenolic từ vỏ quả măng cụt cũng cho ta vòng vô khuẩn đối với trực khuẩn mủ xanh, mặc dù

dung dịch đệm hoà tan chất hoạt tính này từ vỏ măng cụt có màu sắc tối, khó quan sát trên ảnh chụp. Khả năng kìm hãm sự phát triển của trực khuẩn mủ xanh bởi chất phenolic từ vỏ quả bứa (giếng 2) thật đáng kinh ngạc, đến nỗi sự khuếch tán của nó đã kìm hãm lẫn át một phía của giếng đối chứng (giếng 5), không cho trực khuẩn mủ xanh phát triển.

Rõ ràng, đây là một đặc tính rất quý của các chất phenolic ở cây bứa và cây măng cụt thuộc chi *Garcinia*.

III. KẾT LUẬN

1. Trong ba hệ dung môi, chỉ có hệ dung môi toluen-êtylaxetat-axêton-axit phoócmic cho kết quả phân tích tốt nhất các hợp chất phenolic từ các nguyên liệu thực vật như vỏ quả, thịt quả của cây bứa rừng và cây măng cụt.

2. Bằng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng trên silicagel trong hệ dung môi trên, đã phát hiện ra ít nhất có 16 băng các hợp chất phenolic trong dịch chiết từ vỏ quả măng cụt và 8 băng các hợp chất phenolic trong dịch chiết từ vỏ quả bứa. Kết quả phân tích cũng cho thấy trong dịch chiết từ vỏ quả bứa xuất hiện thêm 2 băng mới các hợp chất phenolic mà không có trong dịch chiết từ vỏ quả măng cụt.

3. Các hợp chất phenolic trong dịch chiết từ vỏ quả bứa và vỏ quả măng cụt đều có tác dụng kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn mủ xanh và tụ cầu vàng; trong đó khả năng kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn mủ xanh và tụ cầu vàng của các hợp chất phenolic trong dịch chiết từ vỏ quả bứa là mạnh hơn. Đặc tính này có thể được sử dụng để điều chế các chế phẩm sinh học điều trị hiệu quả một số bệnh nhiễm trùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Võ Văn Chi**, 1997: Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nxb. Y học, Hà Nội.
2. **Lê Thị Ánh Hồng**, 2004: Tạp chí Y học Việt Nam, 301(8): 39-50.
3. **Đỗ Tất Lợi**, 1986: Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
4. **Đào Hữu Vinh và cs.**, 1985: Các phương pháp sắc ký. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
5. **Buchanan B. B., Gruijssem W., Jone R. L.**, 2000: Biochemistry and Molecular Biology of plants: 1302-1316.
6. **Beecher G. R., Warden B. A., Merken H.**, 1999: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 220(4): 267-270.
7. **Cody V., Middleton E., Harborn J. B.**, 1987: Plant flavonoid in Biology and Medicine: 142-148. New York.
8. **Hiramatsu K., et al.**, 1997: Journal of anti-microbial chemotherapy, 40: 135-146.

ANTI-MICROBIAL PROPERTIES OF THE PHENOLIC SUBSTANCES FROM SOME SPECIES OF THE GENUS *GARCINIA* L.

TRUONG VAN CHAU, TRAN HONG QUANG, DO NGOC LIEN

SUMMARY

The phenolic substances from two species of the genus *Garcinia* L. extracted by ethanol or/and methanol were analyzed by silicagel thin layer chromatography and then studied on the anti-microbial capacity to the strains of the hospital infectious bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*).

The resultats showed that:

- The extract by ethanol or methanol from the *Garcinia mangostana* fruit cortex has at least 16 bands of the phenolic substances while that from the *Garcinia oblongifolia* fruit cortex has 8 bands

- The obvious anti-microbial capacity to the *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains of the phenolic substances from *Garcinia mangostana* and *Garcinia oblongifolia* was demonstrated by agar-agar diffusion technique.

Ngày nhận bài: 20-9-2003