

STUDY ON ANTIMICROBIAL ACTIVITIES *IN VITRO* BY FRACTIONS OF *COPTOSAPelta FLAVESCENS* KORTH. RUBIACEAE

Nguyen Thi Bach Tuyet*, Nguyen Nhut Truong

Nguyen Tat Thanh University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 25/10/2022	<i>Coptosapelta flavescens</i> Korth. Rubiaceae (CF) was reported as a potential herbal with various biological activities, especially antimicrobial activity. To provide more scientific information, this research was conducted to evaluate the antimicrobial activity <i>in vitro</i> of this herbal. CF's crude extract was collected in Ninh Thuan province in March 2021. Fraction extracts were prepared by partitioning method with solvents of increasing polarity, including n-hexane, chloroform, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol. Their antimicrobial activities were determined by agar disc diffusion and agar dilution method. The n-hexane and methanol extracts showed no inhibitory effect on all tested microorganisms. The chloroform and dichloromethane extracts exhibited weak antibacterial activities, against tested Gram-positive bacteria. It was interesting when the ethyl acetate extract resisted all tested microorganisms. In particular, in tested microorganisms, the ethyl acetate extract inhibited the growth of <i>S. aureus</i> ATCC 25923 strongest with MIC of 0.512 mg/mL and diameter of inhibition zone of 22.67 mm. Because <i>S. aureus</i> is a popular agent that causes skin and soft tissue infections, the extract will be a potential active ingredient for developing some preparations for the treatment of tissue infection.
Revised: 07/12/2022	
Published: 20/12/2022	
KEYWORDS	
<i>Coptosapelta flavescens</i>	
Ethyl acetate fraction	
Antimicrobial activity	
MIC	
<i>S. aureus</i>	

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT *IN VITRO* CỦA PHÂN ĐOẠN CAO KHAI (*COPTOSAPelta FLAVESCENS* KORTH. RUBIACEAE)

Nguyễn Thị Bạch Tuyết*, Nguyễn Nhựt Trường

Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 25/10/2022	Dây khai (<i>Coptosapelta flavescens</i> Korth. Rubiaceae) là một dược liệu quý hiếm, giàu tiềm năng với các tác dụng sinh học khác nhau, trong đó có khả năng kháng vi sinh vật. Với mục đích cung cấp thêm cơ sở khoa học, nghiên cứu thực hiện khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật <i>in vitro</i> của các phân đoạn Cao khai <i>Coptosapelta flavescens</i> Korth. (Rubiaceae family). Sử dụng Cao khai thu thập tại tỉnh Ninh Thuận vào tháng 03/2021 để chiết xuất các cao phân đoạn với các dung môi có độ phân cực tăng dần, bao gồm n-hexan, chloroform, dichloromethane, ethyl acetate và methanol. Đánh giá hiệu quả kháng vi sinh vật của cao phân đoạn bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch dựa vào đường kính vùng ức chế (mm) và sử dụng phương pháp pha loãng trong môi trường thạch để xác định giá trị nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC) của cao tiềm năng. Kết quả thu được cho thấy, cao n-hexan và cao methanol không thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật. Cao chloroform và cao dichloromethane thể hiện hoạt tính kháng khuẩn yếu, chủ yếu tác động trên chủng vi khuẩn Gram dương. Cao ethyl acetate có khả năng kháng tốt trên 6 chủng vi sinh vật thử nghiệm. Đặc biệt, cao ethyl acetate kháng tốt trên vi khuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923 – tác nhân thường được phân lập trong các ổ nhiễm trùng da, mô mềm với giá trị MIC đạt 0,512 mg/mL và đường kính vùng ức chế là 22,67 mm. Kết quả nghiên cứu tạo tiền đề để phát triển các dạng bào chế dùng ngoài để rửa vết thương nhiễm trùng.
Ngày hoàn thiện: 07/12/2022	
Ngày đăng: 20/12/2022	
TỪ KHÓA	
Cao khai	
Cao ethyl acetate	
Kháng vi sinh vật	
MIC	
<i>S. aureus</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6774>

* Corresponding author. Email: ntb TUYET@ntt.edu.vn

1. Giới thiệu

Theo xu hướng hiện đại, việc phát triển các thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên đang ngày càng được chú trọng. Dây khai (*Coptosapelta flavescens* Korth. (Rubiaceae family)) vốn là loài cây đặc hữu, giàu tiềm năng, được sử dụng lâu đời thông qua các bài thuốc cổ truyền, chữa cảm cúm, điều trị gout... [1], [2]. Hiện nay, Dây khai và cao khô từ Dây khai (thường được gọi là “Cao khai”) ở tỉnh Ninh Thuận được xem là một nguồn tài nguyên quý giá, với nhiều công dụng khác nhau như kháng viêm [3], [4], giảm đau [5], giãn mạch [6], giãn phế quản [7]. Bên cạnh đó, theo kinh nghiệm dân gian, người đồng bào Re ở Đông Nam Bộ sử dụng nước sắc rễ Khai để rửa vết thương phần mềm, nhằm hạn chế nhiễm trùng, giúp vết thương sạch mủ, mau lên da non [8]. Năm 2014, Wipapan K. và cộng sự đã phân lập 4 dẫn chất anthraquinon và 1 dẫn chất naphthoquinon từ dịch chiết acetone của rễ *C. flavescens* và chứng minh khả năng kháng khuẩn trên MSSA và MRSA – các vi khuẩn thường được phân lập trong các ổ nhiễm trùng da, mô mềm [9]. Từ đó cho thấy, Dây khai có tiềm năng kháng khuẩn và làm lành vết thương. Tuy nhiên, hiện nay, ở Việt Nam vẫn chưa có công trình nghiên cứu về hoạt tính kháng vi sinh vật của Dây khai. Do đó, nghiên cứu tiến hành khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật của các phân đoạn Cao khai nhằm chứng minh hoạt tính kháng vi sinh vật và đánh giá tiềm năng sử dụng Cao khai trong hỗ trợ điều trị nhiễm trùng da, mô mềm, làm lành vết thương.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

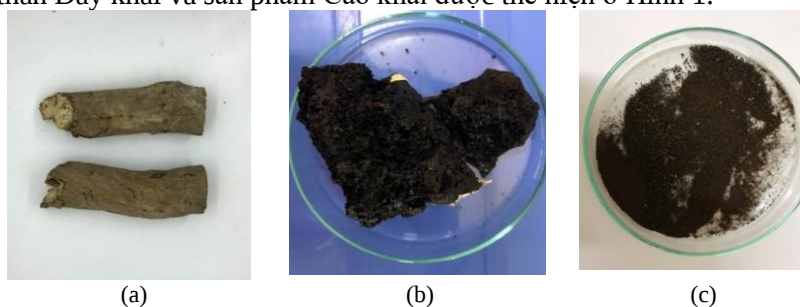
2.1. Nguyên vật liệu

2.1.1. Mẫu thử

Cao khai được thu thập tại tỉnh Ninh Thuận vào tháng 03/2021.

Cao khai được sản xuất như sau: Sau khi thu hái dây khai tiến hành loại bỏ lá thừa, xử lý sơ bộ và cắt thành đoạn nhỏ, rồi đưa vào quy trình nấu cao. Cao được nấu 03 lần với nước sôi (khoảng 100°C trong 48 tiếng/1 lần). Tiếp đến gộp dịch chiết và cô đặc đến khi đạt độ sánh phù hợp (theo kinh nghiệm trong quá trình thực hiện). Sau cùng, đổ cao đã cô vào khuôn được gọi là Cao khai. Cao sẽ màu nâu đen, có mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng. Sau khi thu mua, độ ẩm Cao khai là 11,48%, được phân loại cao đặc [10], bảo quản ở -20°C trước khi thử nghiệm.

Hình ảnh thân Dây khai và sản phẩm Cao khai được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Hình ảnh thân Dây khai và sản phẩm Cao khai

(a) Thân Dây khai *Coptosapelta flavescens* Korth.; (b) sản phẩm Cao khai thu thập tại tỉnh Ninh Thuận;
(c) bột Cao Khai sau khi nghiền mịn

2.1.2. Vi sinh vật thử nghiệm

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) ATCC 33591

Escherichia coli ATCC 25922

Streptococcus pyogenes ACTT 4111

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Candida albicans ATCC 10231.

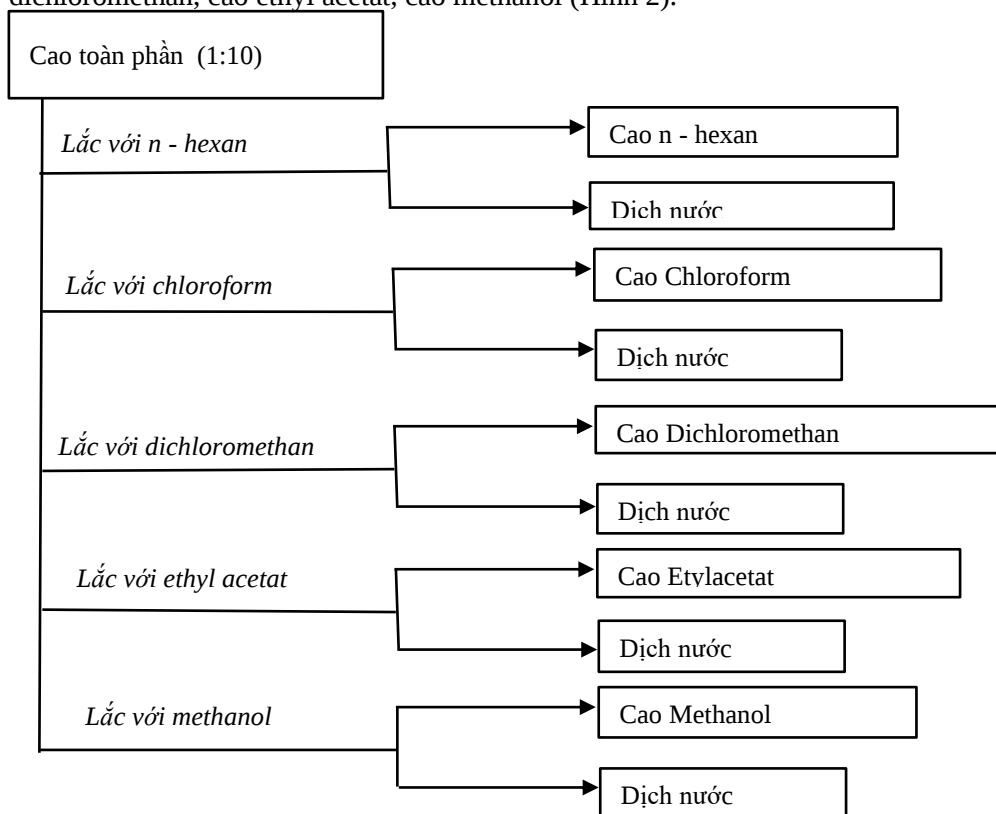
Các vi sinh vật được cung cấp bởi Bộ môn Vi sinh – ký sinh trùng, Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất cao phân đoạn từ Cao khai toàn phần

Quy trình chiết xuất cao phân đoạn từ cao toàn phần như sau:

Cao toàn phần được tái hoà tan vào nước với tỉ lệ cao toàn phần – nước (1:10), thu được dịch. Dịch này được lắc phân bố riêng rẽ với các dung môi (tỉ lệ dịch – dung môi (1:1)) có độ phân cực tăng dần gồm n - hexan, chloroform, dichloromethan, ethylacetat, methanol, sau đó bay hơi dung môi để thu được các cao phân đoạn tương ứng, được đặt tên là cao n- hexan, cao chloroform, cao dichloromethan, cao ethyl acetat, cao methanol (Hình 2).



Hình 2. Quy trình chiết cao phân đoạn

Các cao này sẽ được đánh giá hoạt tính kháng một số vi sinh vật gây nhiễm trùng mô mềm ngoài da *in vitro* nhằm lựa chọn cao phân đoạn có hoạt tính kháng vi sinh vật tốt nhất.

2.2.2. Xác định hoạt tính kháng vi sinh vật bằng phương pháp khuếch tán đĩa

Mục tiêu: Đánh giá vùng ức chế trên các vi sinh vật thử nghiệm của các phân đoạn bằng phương pháp khuếch tán đĩa [11].

Mẫu thử: Các cao phân đoạn được hoà tan vào trong dung môi tương ứng để đạt nồng độ 1 mg/mL so với mẫu chứng âm (dung môi hoà tan các cao phân đoạn).

Vi sinh vật thử nghiệm: Vi khuẩn *S. aureus*, MRSA, *E. coli*, *P. aeruginosa* được phân lập trên môi trường MHA (Mueller Hinton Agar); *S. pyogenes* được phân lập trên môi trường BHI (ủ ở 37°C trong 24 giờ. Lấy 3 – 5 khuẩn lạc riêng rẽ phân tán trong dung dịch NaCl 0,85% bổ sung 0,05% tween 80, sao cho mật độ vi khuẩn đạt khoảng $1 - 2 \times 10^8$ CFU/ ml (OD_{600 nm} từ 0,08 –

0,12). Nấm men *C. albicans* được phân lập trong môi trường SDA (Sabauraud Dextrose Agar) trong vòng 48 giờ ở 37°C. Sau đó, lấy 3 – 5 khối nấm phân tán trong dung dịch NaCl 0,85% bổ sung 0,05% tween 80 sao cho mật độ vi nấm khoảng 10^6 CFU/mL ($OD_{530\text{ nm}}$ từ 0,08 – 0,12).

Tiến hành: Dùng que bông vô trùng trải đều huyền dịch vi sinh vật lên bề mặt môi trường thử nghiệm. Đặt đĩa giấy vô trùng đã tẩm 20 μ L chất thử (cao phân đoạn nồng độ 1 mg/ml). Ủ các đĩa thạch ở 37°C trong 24 giờ đối với vi khuẩn và 48 giờ đối với nấm men. Ghi nhận đường kính vòng ức chế (mm) và lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình. Từ đó, lựa chọn phân đoạn có đường kính vòng ức chế cao nhất để thực hiện thử nghiệm xác định MIC.

2.2.3. Xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC)

Mục tiêu: Xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC) của cao phân đoạn tiềm năng bằng phương pháp pha loãng trong môi trường thạch theo hình bàn cờ [12].

Môi trường thử nghiệm: MHA đối với vi khuẩn (*S. aureus*, MRSA, *E. coli*, *P. aeruginosa*), BHI đối với vi khuẩn *S. pyogenes* và MHA + 2% glucose đối với *C. albicans* ATCC 10231.

Vi sinh vật được chuẩn bị như mục 2.2.2.

Tiến hành: Cao phân đoạn được pha loãng liên tục với môi trường thử nghiệm với nồng độ giảm dần theo lũy thừa bậc 2 trong đĩa 96 giếng. Cấy vi khuẩn thử nghiệm (vi khuẩn 10^4 CFU, vi nấm *C. albicans* 10^3 CFU) lên bề mặt thạch [13]. Ủ các đĩa thạch ở điều kiện thích hợp: vi khuẩn 37°C/24 giờ, vi nấm 37°C/48 giờ và ghi nhận giá trị MIC. Lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Chiết xuất cao phân đoạn từ Cao khai toàn phần

Khối lượng và hiệu suất chiết các cao phân đoạn được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Khối lượng các phân đoạn

	Cao n - hexan	Cao chloroform	Cao dichloromethan	Cao Ethylacetat	Cao methanol
Khối lượng (g)	0,01	0,019	0,0252	0,0527	0,3995
Màu sắc	Vàng nâu	Vàng nâu	Vàng nâu	Vàng nâu	Vàng nâu
Hiệu suất chiết (%)	0,50%	0,95%	1,26%	2,64%	19,98%

Từ kết quả bảng 1 cho thấy, các cao phân đoạn thu được có hiệu suất chiết tăng dần theo độ phân cực của dung môi lần lượt là 0,5% tới 19,98%. Nghiên cứu sử dụng các cao phân đoạn này để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn *in vitro*.

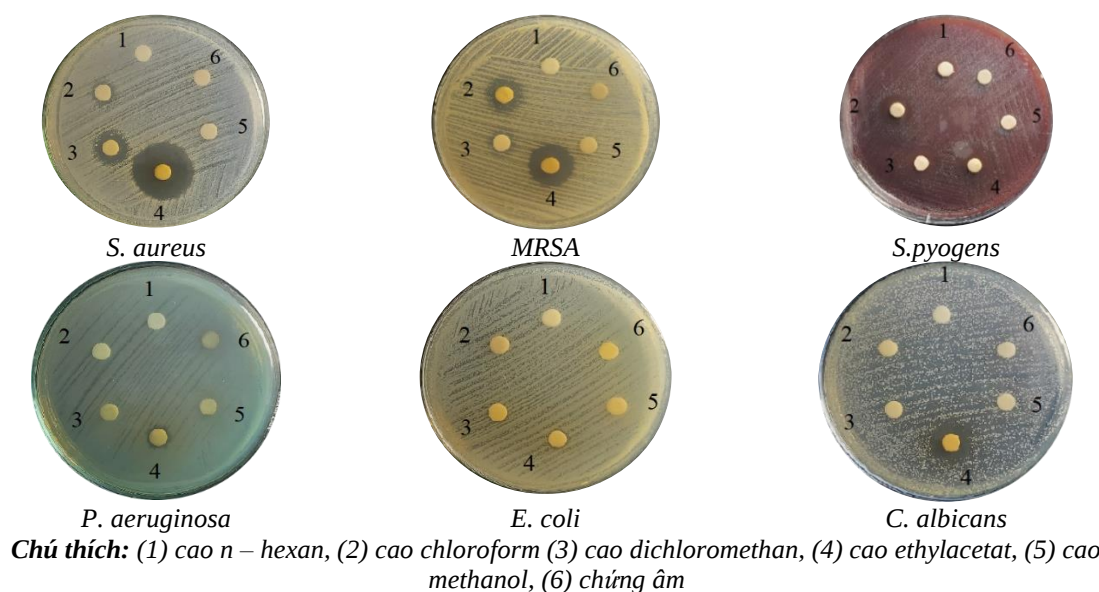
3.2. Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật *in vitro* của các cao phân đoạn và Cao khai toàn phần

3.2.1. Xác định hoạt tính kháng vi sinh vật bằng phương pháp khuếch tán đĩa

Đường kính vùng ức chế các vi sinh vật thử nghiệm của các cao phân đoạn và Cao khai toàn phần được thể hiện ở Bảng 2 và Hình 3.

Bảng 2. Đường kính vùng ức chế (mm) của các mẫu thử nghiệm

	Đường kính vòng ức chế vi khuẩn (mm) (Mean $\pm$ SD)					
	N -hexan	Chloroform	Dichloromethan	Ethyl acetat	Methanol	Chứng âm
<i>S. aureus</i>	-	8,00 $\pm$ 1,00	11,17 $\pm$ 1,26	22,67 $\pm$ 0,29	-	-
MRSA	-	11,00 $\pm$ 0,00	8,00 $\pm$ 0,00	15,67 $\pm$ 0,58	-	-
<i>S.pyogens</i>	-	8,00 $\pm$ 1,00	8,00 $\pm$ 1,73	11,00 $\pm$ 2,00	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	8,00 $\pm$ 0,50	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	8,33 $\pm$ 0,58	-	-
<i>C.albicans</i>	-	-	-	11,33 $\pm$ 1,04	-	-



Hình 3. Vùng ức chế trên các vi sinh vật thử nghiệm của các phân đoạn

Nhận xét: Hoạt tính kháng vi sinh vật của các cao phân đoạn tại nồng độ 1 mg/mL:

- Mẫu chứng âm là dung môi hoà tan tương ứng với các cao phân đoạn không cho vùng ức chế. Điều này cho thấy kết quả thử nghiệm không bị ảnh hưởng bởi các dung môi hoà tan.
- Cao n – hexan và cao methanol không cho vùng ức chế, chứng tỏ 2 cao này không có hoạt tính, không kháng được 6 vi sinh vật thử nghiệm.
- Cao chloroform và cao dichloromethan thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật yếu, chủ yếu tác động trên chủng vi khuẩn gram dương, không ức chế sự phát triển của vi khuẩn gram âm và vi nấm. Cụ thể, với cao chloroform và cao dichloromethan có đường kính vùng ức chế trên *S. aureus*, *MRSA*, *S. pyogenes* lần lượt là 8 mm, 11 mm, 8 mm và 11,17 mm, 8 mm, 8 mm.
- Cao ethyl acetat có khả năng kháng cả 5 vi khuẩn và 1 vi nấm với đường kính vùng ức chế lần lượt là *S. aureus* 22,67 mm, *MRSA* 15,67 mm, *S. pyogenes* 11 mm, *P. aeruginosa* 8 mm, *E. coli* 8,33 mm, *C. albicans* 11,33 mm. Phổ kháng khuẩn của cao ethyl acetat tốt hơn trên nhóm vi khuẩn gram dương. Điểm đặc biệt ở đây là cao ethyl acetat có khả năng kháng tốt nhất trên vi khuẩn *S. aureus* và *MRSA* – là tác nhân thường được phân lập trong các ổ nhiễm trùng da, mô mềm. Vì vậy, nghiên cứu lựa chọn phân đoạn ethyl acetat để xác định giá trị MIC, đánh giá tác động kháng khuẩn *in vivo*.

3.2.2. Xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC) của cao ethyl acetat

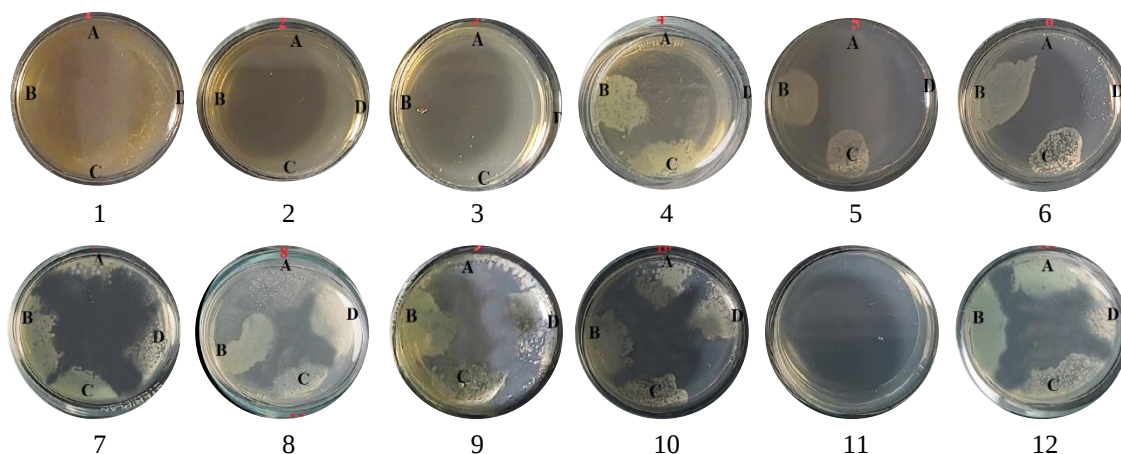
Giá trị MIC của phân đoạn ethyl acetat được xác định bằng phương pháp pha loãng trong môi trường thạch với nồng độ cao nhất là 8,192 mg/mL. Thực hiện đồng thời mẫu chứng âm đĩa 12.

Hoạt tính kháng *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *MRSA* của cao ethyl acetat được minh họa ở Bảng 3 và Hình 4, sử dụng hỗn hợp dung môi hòa tan bao gồm DMSO 1%, PEG 400 2%, Tween 80 0,5% và môi trường thử nghiệm MHA.

Bảng 3. Xác định MIC trên *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *MRSA*

Nồng độ (mg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	8,192	4,096	2,048	1,024	0,512	0,256	0,128	0,064	0,032	0,016	0,008	0
Vi sinh vật												
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>MRSA</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+

Chú thích: (-) Vi sinh vật không tăng trưởng, (+) Vi sinh vật tăng trưởng



Chú thích: (A) *S.aureus*, (B) *P.aeruginosa*, (C) *E.coli*, (D) MRSA

Hình 4. Kết quả MIC trên *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, MRSA

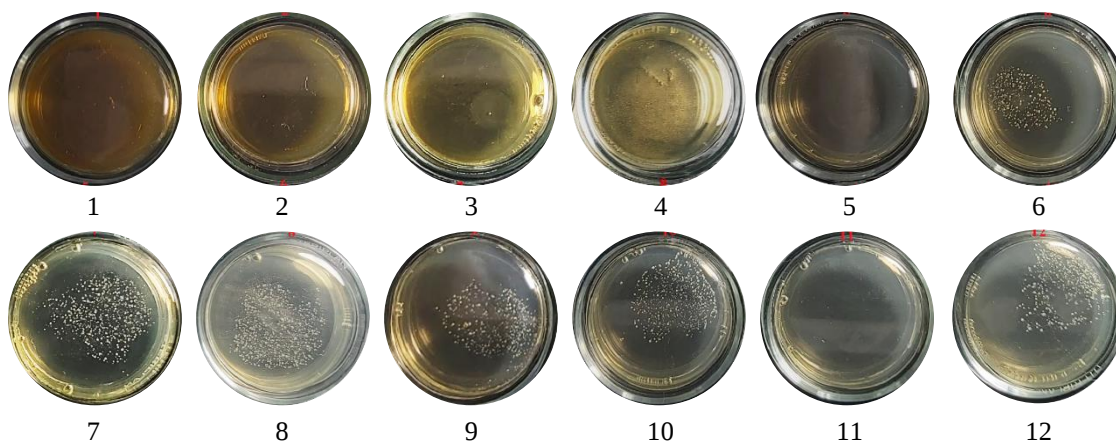
Từ Bảng 3 và Hình 4 cho thấy, đĩa số 5 có nồng độ mẫu thử thấp nhất ức chế sự phát triển của vi khuẩn gram dương *S. aureus* và MRSA. Từ đó, xác định giá trị MIC trên 2 vi khuẩn *S. aureus* và MRSA của phân đoạn ethyl acetat là 0,512 mg/mL. Mặt khác, đĩa số 3 là nồng độ thấp nhất của mẫu thử ức chế sự phát triển của 2 vi khuẩn gram âm *P. aeruginosa* và *E. coli*. Từ đó, xác định giá trị MIC của phân đoạn ethyl acetat trên 2 vi khuẩn *P. aeruginosa* và *E. coli* là 2,048 mg/mL.

Hoạt tính kháng khuẩn *S. pyogens* của phân đoạn ethyl acetat được minh họa ở Bảng 4 và Hình 5, sử dụng hỗn hợp dung môi hòa tan bao gồm DMSO 1%, PEG 400 2%, Tween 80 0,5% và môi trường thử nghiệm BHI.

Bảng 4. Xác định MIC trên *S. pyogens*

Nồng độ (mg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	8,192	4,096	2,048	1,024	0,512	0,256	0,128	0,064	0,032	0,016	0,008	0
Vi sinh vật <i>S.pyogens</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+

Chú thích: (-) Vi sinh vật không tăng trưởng, (+) vi sinh vật tăng trưởng



Hình 5. Kết quả MIC của *S.pyogens*

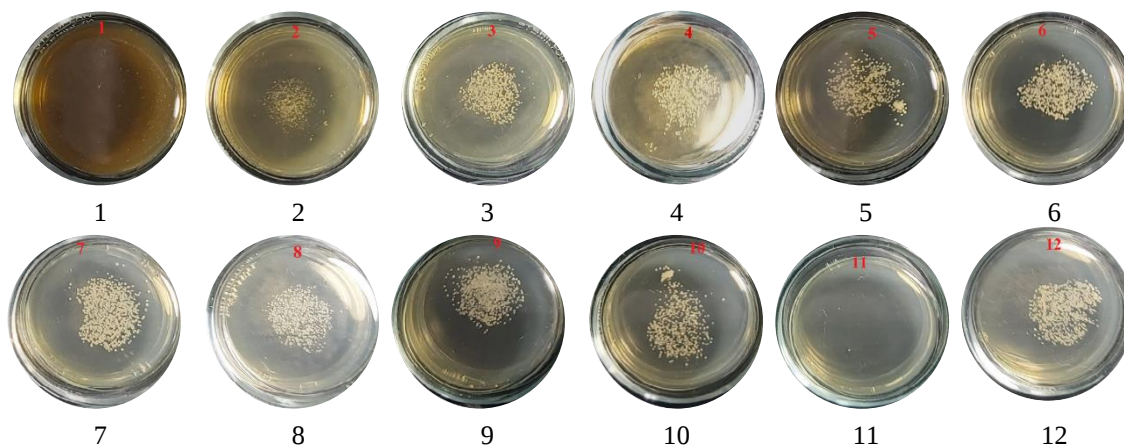
Từ Bảng 4 và Hình 5 cho thấy, đĩa số 5 là nồng độ thấp nhất ức chế sự phát triển của vi khuẩn *S. pyogens*. Từ đó, nghiên cứu xác định giá trị MIC là 0,512 mg/mL.

Hoạt tính kháng nấm *C. albicans* của cao ethyl acetat được minh họa ở Bảng 5 và Hình 6, sử dụng hỗn hợp dung môi hòa tan bao gồm DMSO 1%, PEG 400 2%, Tween 80 0,5% và môi trường thử nghiệm MHA bổ sung 2% glucose.

Bảng 5. Xác định MIC trên *C. albicans*

Nồng độ (mg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Vi sinh vật	8,192	4,096	2,048	1,024	0,512	0,256	0,128	0,064	0,032	0,016	0,008	0
<i>C.albicans</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Chú thích: (-) Vi sinh vật không tăng trưởng, (+) vi sinh vật tăng trưởng

Hình 6. Kết quả MIC của *C.albicans*

Qua Bảng 5 và Hình 6 cho thấy, đĩa số 2 đến số 10 đều có vi nấm mọc và tăng trưởng. Đĩa số 1 không có hiện tượng vi nấm *C. albicans* mọc. Từ đó, nghiên cứu xác định giá trị MIC của cao ethyl acetat trên nấm *C. albicans* là 8,192 mg/mL.

Kết quả về giá trị MIC của cao ethyl acetat trên 6 chủng vi sinh vật được thể hiện ở Bảng 6.

Bảng 6. Giá trị MIC của cao ethyl acetat trên 6 chủng vi sinh vật

Vi sinh vật	MIC (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	0,512 ± 0
<i>P.aeruginosa</i>	2,048 ± 0
<i>E. coli</i>	2,048 ± 0
MRSA	0,512 ± 0
<i>S.pyogens</i>	0,512 ± 0
<i>C.albicans</i>	8,192 ± 0

Qua Bảng 6 cho thấy, cao ethyl acetat kháng tốt trên 3 chủng vi khuẩn gram dương (*S. aureus*, MRSA, *S. pyogens*) với MIC là 0,512 mg/mL, tiếp theo là trên 2 chủng vi khuẩn gram âm (*P. aeruginosa*, *E. coli*) với MIC là 2,048 mg/mL và cuối cùng là trên vi nấm *C. albicans* với MIC là 8,192 mg/mL. Kết quả này phù hợp với phương pháp khuếch tán đĩa (Bảng 2, Hình 3).

Từ kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật bằng phương pháp đặt đĩa giấy cùng với xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC), cho thấy phân đoạn cao ethyl acetat cho kết quả kháng vi sinh vật lớn nhất trong các cao phân đoạn, đặc biệt đối với chủng *S. aureus* (đường kính ức chế trung bình lớn nhất là 22,67 mm). Đồng thời, ở nồng độ tối thiểu (MIC) là 0,512 mg/mL (tương đương 512 µg/mL) có khả năng ngăn chặn sự tăng trưởng *S. aureus*. Do đó, cao ethyl acetat có tiềm năng trong việc kháng tốt chủng *S. aureus*. Hiệu quả kháng *Staphylococcus aureus* thấp hơn 4 lần so với cao acetone (MIC = 128 µg/mL) mà Wipapan Kongyen và cộng sự (năm 2014) [9] đã thực hiện. Sự khác nhau này nhóm nghiên cứu giải thích có thể do sự khác nhau về dung môi chiết xuất (ethyl acetat, acetone) và nơi thu hái dược liệu mang thổ nhưỡng khác nhau (Ninh Thuận – Việt Nam, Thái Lan).

Trên các chủng vi sinh vật khác, cao ethyl acetat thể hiện đường kính vùng ức chế lần lượt là *S.pyogens* (d = 11 mm), *P. aeruginosa* (d = 8 mm), *E. coli* (d = 8,33 mm), *C. albicans* (d = 11,33

mm). Kết quả đường kính vùng ức chế 8,33 mm của cao ethyl acetat với chủng *E. coli* cũng tương tự với nghiên cứu của D. Dewi Marlina và cộng sự (2019) [14] với đường kính ức chế từ 11,5 đến 15 mm khi tăng nồng độ từ 2 – 16% của phân đoạn methanol rễ Dây khai. Trên chủng vi nấm *C. albicans*, cao ethyl acetat thể hiện đường kính vòng ức chế 11,33 mm. Kết quả này cũng tương đồng với nhóm nghiên cứu Kusumawati và cộng sự (2020) với đường kính ức chế 12,98 mm của cao chiết ethanol 10% của rễ *C. flavences* so với đối chứng ketoconal (20,17 mm) [15].

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thu được các cao phân đoạn với hiệu suất chiết lần lượt là cao n-hexan 0,50%; cao chloroform 0,95%; cao dichloromethan 1,26%; cao ethylacetat 2,64%; cao methanol 19,98%. Cao ethyl acetat thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật tốt nhất trong các cao phân đoạn với đường kính vùng ức chế lần lượt là *S.aureus* (d = 22,67 mm), *MRSA* (d = 15,67 mm), *S.pyogens* (d = 11 mm), *P.aeruginosa* (d = 8 mm), *E.coli* (d = 8,33 mm), *C.albicans* (d = 11,33 mm). Đặc biệt, cao ethyl acetat kháng tốt nhất với chủng *S.aureus* với MIC = 0,512 mg/mL. Các kết quả này tạo tiền đề để tiếp tục thực hiện các nghiên cứu trên mô hình kháng khuẩn *in vivo* trước khi ứng dụng bào chế các sản phẩm điều trị nhiễm trùng ngoài da, mô mềm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] M. V. Vo, Y. K. T. Nguyen, and T. K. T. Pham, "Medicinal plants used by the hre community in the Ba to district of central Vietnam," *Journal of Medicine Plants Stud.*, vol. 2, pp. 64-71, 2014.
- [2] K. C. Tran, "Herbal medicine named "Day khai" in Vietnamese," *Medicine and health*, no. 383, p. 15, 2009.
- [3] K. Kosala *et al.*, "In vitro and in vivo anti-inflammatory activities of *Coptosapelta flavescens* Korth Root's methanol extract," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, vol. 8, pp. 42-48, 2018.
- [4] T. B. T. Nguyen and L. P. T. Hoang, "Study on oral acute toxicity and anti-inflammatory effects of Cao Khai traditional medicine produced in Ninh Thuan province, Vietnam," *Journal of Science and Technology - Nguyen Tat Thanh University*, vol. 3, no. 3, pp. 61-67, 2020.
- [5] L. P. T. Hoang and T. B. T. Nguyen, "Evaluation of the analgesic effect of the extract from *Coptosapelta flavescens* Korth. stem on white mice," *Journal of Science and Technology - Nguyen Tat Thanh University*, vol. 4, no. 1, pp. 56-62, 2021.
- [6] K. Kosala *et al.*, "In vitro exploration of vasodilation activity of the methanol extract of the *Coptosapelta flavescens* Korth stem," *Journal of Islamic Medicine Research*, vol. 1, pp. 10-14, 2017.
- [7] K. Kosala, M. A. Widodo *et al.*, "In Vitro study of the bronchorelaxation effect on *Coptosapelta flavescens* Korth. Root's extract and fractions," *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 12, pp. 95-97, 2019.
- [8] B. H. Do, *Medicinal plants and medicinal animals in Vietnam*, vol. 1, Hanoi Science and Technology Publishing House, 2003, pp. 645-646.
- [9] K. Wipapan *et al.*, "Anthraquinone and Naptoquinone Derivatives from the Roots of *Coptosapelta flavescens*," *Natural Product Communication*, vol. 9, pp. 219-220, 2014.
- [10] Ministry of Health, *Vietnamese-pharmacopoeia-V* (in vietnamese), vol. 2, Hanoi Medical Publishing House, 2017.
- [11] CLSI, *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Guideline, 2004.
- [12] J. Golus *et al.*, "The agar microdilution method—a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 121, no. 5, pp. 1291-1299, 2016.
- [13] L. B. Reller, M. Weinstein *et al.*, "Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices," *Clinical infectious diseases*, vol. 49, no. 11, pp. 1749-1755, 2009.
- [14] D. D. Marlina *et al.*, "Phytochemical test and antibacterial activity test of methanol extract of merung root (*Coptosapelta tomentosa*)," *Journal Atomik*, vol. 4, no. 2, pp. 69-72, 2019.
- [15] Kusumawati *et al.*, "Antifungal activity test of Root ethanol extract (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) against *Candida albicans* in vitro," *Scientific and Applied Journal of Hasnur Polytechnic*, vol. 8, no. 1, pp. 1-9, 2020.