

Hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh ngoài da của chiết xuất Sài đất ba thùy *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc

Đinh Thị Thu Hường, Bùi Thanh Phong*, Trần Hữu Thạnh, Huỳnh Minh Hưng, Trương Ngọc Bảo Trâm
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các bệnh nhiễm khuẩn và nấm ngoài da là vấn đề phổ biến, đặc biệt tại vùng nhiệt đới. Việc lạm dụng kháng sinh và thuốc kháng nấm tổng hợp dẫn đến tình trạng kháng thuốc ngày càng gia tăng, đòi hỏi tìm kiếm nguồn hoạt chất kháng khuẩn tự nhiên an toàn và hiệu quả. **Mục tiêu:** Nghiên cứu nhằm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm gây bệnh ngoài da của cao chiết ethanol 45% và 70% từ phần trên mặt đất của Sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* (L.) Hitchc). **Phương pháp:** Cao chiết được điều chế bằng phương pháp ngâm kiệt với ethanol 45% và 70%, định tính các nhóm hợp chất chính, và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn - kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch và xác định MIC, MBC, MFC trên các chủng vi khuẩn và nấm chuẩn gây bệnh ngoài da. **Kết quả:** Cả hai cao chiết chứa flavonoid, saponin và đường khử; riêng cao 45% có thêm alkaloid, tannin, triterpenoid và terpenoid. Cao 45% thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn (MIC 625 - 2,500 µg/mL), đặc biệt với *S. aureus* và *K. pneumoniae*. Hoạt tính kháng nấm ghi nhận trên *T. mentagrophytes* và *T. rubrum* (MIC = 625 µg/mL). **Kết luận:** Cao ethanol 45% từ *W. trilobata* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm chọn lọc ở mức trung bình, hứa hẹn tiềm năng ứng dụng trong chế phẩm kháng khuẩn tự nhiên điều trị bệnh ngoài da.

Từ khóa: *Wedelia trilobata*, kháng khuẩn, kháng nấm, vi sinh vật gây bệnh ngoài da

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Da là cơ quan lớn nhất của cơ thể, đóng vai trò hàng rào bảo vệ sinh học quan trọng ngăn cách cơ thể với môi trường bên ngoài. Trên bề mặt da tồn tại hệ vi sinh vật phong phú với hơn 500 loài khác nhau, bao gồm cả vi sinh vật có lợi và có hại, tạo nên hệ sinh thái cân bằng giúp bảo vệ cơ thể khỏi sự xâm nhập của các tác nhân gây bệnh. Tuy nhiên, khi hàng rào bảo vệ này bị tổn thương hoặc hệ miễn dịch suy giảm, sự cân bằng vi sinh vật bị phá vỡ, tạo điều kiện cho các loài vi khuẩn và nấm gây bệnh phát triển. Những vùng da ẩm, nhiều bã nhờn như nách, bẹn, mặt, hoặc giữa các ngón tay, ngón chân là nơi lý tưởng cho vi sinh vật phát triển mạnh mẽ. Các tác nhân gây bệnh ngoài da phổ biến bao gồm các vi khuẩn Gram dương như *Staphylococcus aureus* (kể cả chủng kháng methicillin - MRSA), *Streptococcus pyogenes* và các vi khuẩn Gram âm như *Pseudomonas aeruginosa*; trong đó, *S. aureus* là nguyên nhân chính gây nhiễm trùng da và mô mềm [1]. Bên cạnh đó, các vi nấm ưa keratin như *Trichophyton*, *Microsporum* và *Epidermophyton* cũng là nguyên nhân phổ biến gây các bệnh nấm da, nấm tóc, nấm móng... đặc biệt tại các vùng khí hậu nóng ẩm như Việt Nam [2]. Theo báo cáo của Bệnh

viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Hải Phòng, tỷ lệ mắc bệnh nấm da chiếm đến 27.3% dân số, tập trung ở nhóm tuổi 20 - 29, trong đó *Trichophyton rubrum* và *T. mentagrophytes* là hai loài thường gặp nhất [3].

Các bệnh nhiễm khuẩn và nấm ngoài da tuy hiếm khi đe dọa tính mạng, nhưng lại kéo dài, dễ tái phát, ảnh hưởng đến thẩm mỹ, tâm lý và chất lượng cuộc sống của người bệnh. Điều trị chủ yếu hiện nay là sử dụng thuốc kháng sinh và kháng nấm, thường ở dạng bôi tại chỗ hoặc uống toàn thân. Các hoạt chất như mupirocin, acid fusidic, clindamycin hoặc ketoconazole có khả năng diệt khuẩn nhanh, hiệu quả tức thời, tuy nhiên việc lạm dụng hoặc sử dụng không đúng liều dẫn đến hiện tượng kháng thuốc ngày càng phổ biến. Theo báo cáo toàn cầu về tình trạng kháng kháng sinh (AMR) năm 2019, các chủng *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *A. baumannii* và *P. aeruginosa* là những tác nhân hàng đầu gây ra hơn 929,000 ca tử vong trực tiếp do AMR và 3.57 triệu ca tử vong có liên quan đến AMR. Trong đó, *S. aureus* kháng methicillin (MRSA) chiếm hơn 100,000 ca tử vong/năm. Đến năm 2021, số ca tử vong liên quan đến AMR ước tính đạt 4.71 triệu người và có thể tăng lên hơn 8 triệu người vào năm

Tác giả liên hệ: Bùi Thanh Phong
Email: phongbui0407@gmail.com

2050 nếu không có biện pháp kiểm soát hiệu quả [4]. Ngoài hậu quả về sức khỏe, tình trạng kháng thuốc còn gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng. Các nghiên cứu năm 2018 ước tính chi phí y tế vượt mức do AMR có thể lên tới hàng tỷ đô la mỗi năm, ảnh hưởng đến GDP của nhiều quốc gia đang phát triển [4].

Tình trạng kháng thuốc kháng sinh và kháng nấm đang thúc đẩy nhu cầu tìm kiếm các hợp chất mới có nguồn gốc tự nhiên, ít độc tính và hiệu quả trong điều trị các bệnh ngoài da. Thảo dược được xem là nguồn tiềm năng lớn nhờ chứa các hợp chất thứ cấp như alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, saponin và glycoside - những hợp chất đã được chứng minh có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm mạnh. Chiết xuất thực vật như *Lawsonia inermis* L. đã được xác định có khả năng kháng *Candida albicans*, trong khi các loài như *Ocimum tenuiflorum*, *Cynodon dactylon* hay *Cassia fistula* thể hiện hoạt tính chống lại các chủng *Microsporum*, *Epidermophyton* và *Trichophyton*. Nhiều tinh dầu có nguồn gốc từ thực vật họ Cúc (Asteraceae) như cây Tràm, Oải hương, Húng tây, Khuynh diệp đã được chứng minh có tác dụng chống nấm nhờ sự hiệp đồng giữa các thành phần monoterpen, sesquiterpen, phenolic và coumarin [5].

Trong số các loài dược liệu được sử dụng dân gian để điều trị bệnh ngoài da, Sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* (L.) Hitchc.) là một trong những loài có tiềm năng lớn. Cây thuộc họ Cúc (Asteraceae), có nguồn gốc từ châu Mỹ, hiện mọc hoang phổ biến ở vùng nhiệt đới, trong đó có Việt Nam [6]. Theo y học cổ truyền, Sài đất ba thùy có vị ngọt, tính mát, có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, tiêu viêm, thường dùng chữa viêm da, mụn nhọt, sốt, viêm khớp, và rần cấn [7]. Kinh nghiệm dân gian còn cho rằng nước nấu từ lá tươi có thể dùng tắm trị rôm sảy và viêm da ở trẻ nhỏ, hoặc dùng dịch cồn 45 - 70% thoa ngoài da để sát khuẩn và kháng nấm.

Các nghiên cứu hóa thực vật đã xác định trong *W. trilobata* chứa nhiều nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh, gồm alkaloid, glycoside, tannin, triterpenoid, carbohydrate và flavonoid, cùng với sesquiterpene lactone, triterpene và các diterpenoid thuộc nhóm *ent*-kaurane [8]. Thành phần tinh dầu của cây giàu các hợp chất như germacrene D, α -phellandrene, α -pinene, E-caryophyllene, bicyclgermacrene, limonene và α -humulene [8], đây đều là những hoạt chất có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm và chống viêm đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu.

Các nghiên cứu trước cho thấy cao chiết n-hexane

của *W. trilobata* có hoạt tính ức chế *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella* spp. và *Shigella sonnei* [9]. Neelam Balekar và cộng sự (2012) cũng chỉ ra rằng phân đoạn ethyl acetate của cao chiết ethanol lá *W. trilobata* thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* và *S. epidermidis* với giá trị MIC lần lượt là 62.5 và 31.25 $\mu\text{g/mL}$, đồng thời có khả năng kích thích tăng sinh nguyên bào sợi và thúc đẩy lành vết thương [10].

Mặc dù đã có một số công bố quốc tế về đặc tính kháng khuẩn của *W. trilobata*, nhưng các nghiên cứu chuyên sâu về tác dụng kháng vi sinh vật gây bệnh ngoài da của loài này tại Việt Nam vẫn còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng ức chế các chủng vi khuẩn (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*) và nấm gây bệnh da (*C. albicans*, *M. gypseum*, *M. cookei*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*) của cao chiết ethanol 45% và 70%. Kết quả nghiên cứu cung cấp bằng chứng khoa học về phổ kháng khuẩn, kháng nấm đồng thời lựa chọn được dung môi tốt hơn để thu được các nhóm hoạt chất có hoạt tính tiềm năng làm cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hoạt chất nghiên cứu

Dược liệu được thu hái ở khu vực tỉnh Long An và tiến hành định danh bởi Cử nhân Cao Ngọc Giang (Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh).

Sử dụng các chủng vi sinh vật kiểm định bao gồm vi khuẩn (*S. aureus* ATCC 25953, *P. aeruginosa* ATCC 10145, *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *K. pneumoniae* ATCC 13439), nấm men (*C. albicans* ATCC 10231) và các chủng nấm da (*M. gypseum* ATCC 24102, *M. cookei* 13275, *T. mentagrophytes* ATCC 9533, *T. rubrum* ATCC 28188) đều được cung cấp bởi ATCC (American Type Culture Collection).

Ethanol và các dung môi của Fisher, Mueller hinton agar (MHA), ciprofloxacin, DMSO, resazurin, sabouraud, ketoconazole và các hóa chất khác từ Merck và Sigma.

2.2. Chiết xuất cao chiết và xác định thành phần hóa học

Phần trên mặt đất của Sài đất ba thùy được phơi khô, xay và sàng qua rây 350 μm . Dược liệu được chiết ngấm kiệt bằng cồn 45% và 70% với tỉ lệ 1:10 trong vòng 3 ngày. Dịch chiết sau khi được lọc loại bỏ cặn, tiến hành đông khô bằng thiết bị Labconco FreeZone để thu được cao khô độ ẩm không quá

5%. Cao chiết được tiêu chuẩn hóa theo phụ lục 1.1, trang PL-208 của Dược điển Việt Nam V [11].

2.3. Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn

2.3.1. Phương pháp khuếch tán giếng thạch

Phương pháp khuếch tán giếng thạch được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết [12]. Đổ 10 mL môi trường thạch Mueller Hinton Agar (MHA) vào đĩa petri (đường kính 90 mm) vô trùng và để đông. Huyền dịch vi khuẩn (đạt nồng độ chuẩn hóa tương ứng với độ đục của thang McFarland 0.5 với mật độ vi khuẩn khoảng 1.5×10^8 CFU/mL) được trải đều lên bề mặt của đĩa petri thạch đã đông. Dùng dụng cụ vô trùng đục lên đĩa thạch để tạo các giếng có đường kính 8 mm. Thêm 20 μ L mỗi loại cao chiết (nồng độ 50 mg/mL) được cho vào giếng và giữ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ để cao chiết khuếch tán rồi đem đĩa petri ủ ở 37°C trong 24 giờ. Ciprofloxacin (40 μ g/mL) được sử dụng làm đối chứng dương. Chứng âm được sử dụng là DMSO 5%. Sau 24 giờ, đo đường kính vòng ức chế (IZD). Vùng ức chế là vùng mà vi khuẩn không mọc (bề mặt thạch vẫn nhẵn bóng). Quy trình được lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình của IZD.

2.3.2. Phương pháp xác định MIC và MBC

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các cao chiết được xác định bằng phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng (broth microdilution) trên đĩa 96 giếng, sử dụng chất chỉ thị màu resazurin để xác định sự phát triển của vi khuẩn [12]. Cao chiết và chứng dương được pha loãng trong dung môi DMSO để tạo dãy nồng độ phù hợp và bảo đảm nồng độ DMSO cuối cùng không vượt quá 5%. Trộn 50 μ L dịch vi khuẩn (đạt mật độ 10^5 - 10^6 CFU/mL) trộn với 50 μ L dịch cao chiết trong mỗi giếng. Đối chứng dương được sử dụng là huyền dịch vi khuẩn và môi trường. Đối chứng âm là môi trường và DMSO. Giếng trắng (blank) gồm cao chiết và môi trường. Mỗi mẫu được lặp lại ba lần. Sau 24 giờ ủ ở 37°C, nhỏ vào mỗi giếng 20 μ L dung dịch resazurin 0.01%. Chất chỉ thị này chuyển từ xanh sang hồng khi có vi khuẩn phát triển. MIC được xác định là nồng độ thấp nhất mà dung dịch vẫn giữ màu xanh, chứng tỏ vi khuẩn bị ức chế. Để xác định MBC, lấy 100 μ L dung dịch từ các giếng không đổi màu và cấy lên đĩa thạch MHA, sau đó ủ ở 37°C trong 24 giờ. MBC là nồng độ thấp nhất tại đó không xuất hiện khuẩn lạc trên thạch. Các đĩa đối chứng có khuẩn lạc phát triển để đảm bảo điều kiện nuôi cấy phù hợp. Mỗi thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần vào các thời

điểm khác nhau nhằm tăng độ tin cậy của kết quả.

2.4. Phương pháp xác định hoạt tính kháng nấm da

2.4.1. Phương pháp khuếch tán giếng thạch

Hoạt tính kháng nấm của các cao chiết (50 mg/mL) được xác định bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch trên môi trường Sabouraud Agar theo tham chiếu [13]. Huyền dịch vi nấm chuẩn hóa (0.5 McFarland) được trải đều trên bề mặt thạch, sau đó tạo các giếng chiết đường kính 8 mm và thêm 20 μ L mẫu thử. Sau 1 giờ khuếch tán, các đĩa mẫu được ủ ở 30°C trong 48 giờ đối với *C. albicans* và từ 7 - 10 ngày đối với các chủng nấm sợi (*Microsporum* spp. và *Trichophyton* spp.). Ketoconazole (30 μ g/mL) và DMSO 5% lần lượt được sử dụng làm đối chứng dương và đối chứng âm. Hoạt tính được ghi nhận thông qua giá trị trung bình đường kính vòng ức chế (IZD) từ ba lần lặp lại.

2.4.2. Phương pháp xác định MIC và MFC

Giá trị MIC và MFC (nồng độ diệt nấm tối thiểu) của các cao chiết được xác định bằng phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng trên đĩa 96 giếng, sử dụng chất chỉ thị màu resazurin để xác định sự phát triển của vi nấm. Cao chiết và chứng dương được pha loãng trong dung môi DMSO để tạo dãy nồng độ phù hợp lần lượt và đảm bảo rằng nồng độ DMSO không vượt quá 5%. Huyền dịch vi nấm được pha loãng đến mật độ 10^5 - 10^6 CFU/mL. Trong mỗi giếng, thêm lần lượt 50 μ L huyền dịch vi nấm và 50 μ L mẫu dịch chiết ở các nồng độ khác nhau.

Thiết lập đối chứng:

Đối chứng dương: Huyền dịch vi nấm và môi trường

Đối chứng âm: Môi trường và DMSO

Giếng trắng (blank): Cao chiết và môi trường

Các đĩa được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Tiếp theo, thêm 20 μ L dung dịch chỉ thị resazurin 0.01% vào mỗi giếng, sau đó tiếp tục ủ thêm 2 - 4 giờ. Resazurin ban đầu có màu xanh lam; nếu có sự phát triển vi nấm, màu sẽ chuyển sang hồng hoặc không màu do bị khử. MIC được xác định là nồng độ thấp nhất trong dãy thử nghiệm mà tại đó màu xanh lam vẫn giữ nguyên - phản ánh sự ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm. Để xác định MFC, lấy 100 μ L dung dịch từ các giếng không đổi màu (không có tăng trưởng nấm) và cấy lên đĩa thạch SDA. Các đĩa này được ủ ở 30°C trong 48 giờ đối với *C. albicans* và 7 - 10 ngày đối với nấm *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. cookei*, *M. gypseum*. MFC được ghi nhận là nồng độ thấp nhất mà tại đó không có khuẩn lạc xuất hiện, trong khi đĩa đối chứng vẫn có vi nấm mọc, cho

thấy hiệu lực diệt nấm tuyệt đối tại nồng độ đó. Mỗi thử nghiệm được thực hiện tối thiểu ba lần ở các thời điểm khác nhau để tăng độ tin cậy cho kết quả.

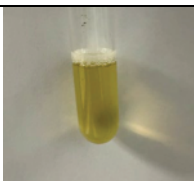
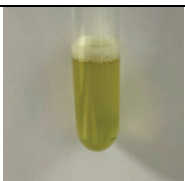
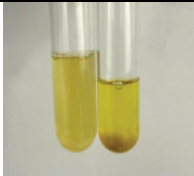
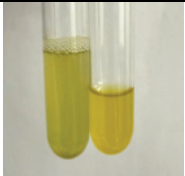
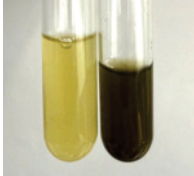
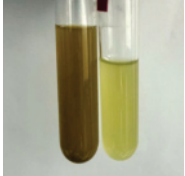
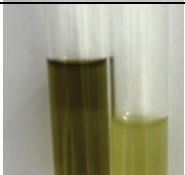
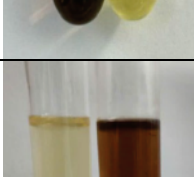
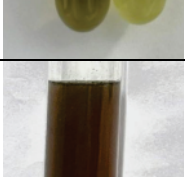
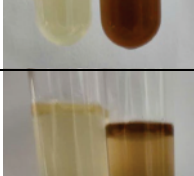
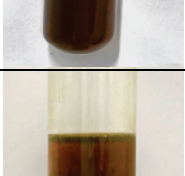
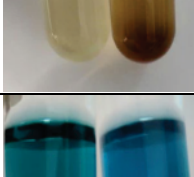
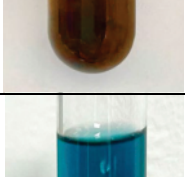
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả chiết xuất cao và thành phần hóa thực vật cao chiết

Trong quá trình thực nghiệm, độ ẩm của bột dược liệu ban đầu được xác định là 11.25%. Từ 100g bột

dược liệu này, quá trình chiết xuất với các nồng độ dung môi khác nhau đã thu được những kết quả cụ thể về khối lượng và hiệu suất. Cụ thể, khi sử dụng dung môi ethanol 70%, khối lượng cao thu được là 14.5574 g với độ ẩm 4.23%, tương ứng với hiệu suất chiết đạt 15.71%. Trong khi đó, việc chiết xuất bằng dung môi ethanol 45% cho lượng cao nhỉnh hơn với 16.9114 g, độ ẩm cao đạt 4.90% và hiệu suất chiết được tính toán là 18.12%.

Bảng 1. Thành phần hóa thực vật từ cao cồn 45% và 70% của Sài đất ba thùy

STT	Nhóm hợp chất	Kết quả			
		Cao cồn 45%		Cao cồn 70%	
1	Saponin	++		++	
2	Alkaloid	+		-	
3	Tanin	+		-	
4	Triterpenoid	+		-	
5	Flavonoid	+		+	
6	Terpenoids	+		-	
7	Đường khử	++		++	

Kết quả định tính các nhóm hợp chất chính trong cao chiết ethanol 45% và 70% của phần trên mặt đất cây Sài đất ba thùy (*Wedelia trilobata* L.) được trình bày trong Bảng 1 cho thấy sự hiện diện đa dạng của nhiều nhóm hợp chất tự nhiên. Cả hai loại cao đều cho phản ứng dương tính mạnh với saponin (++), flavonoid (+) và đường khử (++), chứng tỏ sự hiện diện đáng kể của các hợp chất polyphenol và glycoside có tính phân cực mạnh. Riêng cao chiết ethanol 45% ghi nhận thêm sự xuất hiện của alkaloid, tannin, triterpenoid và terpenoid, trong khi cao 70% cho thấy phản ứng dương tính với steroid và có thể hàm lượng terpenoid thấp hơn.

3.2. Khả năng ức chế vi khuẩn của các cao chiết Sài đất ba thùy

Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết ethanol 45% và 70% từ *W. trilobata* được đánh giá trên năm chủng vi khuẩn chuẩn gây bệnh ngoài da gồm: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 và *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13439. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy cả hai cao chiết đều có khả năng ức chế sự phát triển của hầu hết các chủng vi khuẩn thử nghiệm, với đường kính vòng vô khuẩn dao động từ 12.33 ± 0.58 đến 18.67 ± 0.58 mm tùy chủng. Cao ethanol 45% thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đáng kể ở một số chủng, đặc biệt đối với *S. aureus* và *K. pneumoniae*.

Bảng 2. Khả năng ức chế vi khuẩn của các cao chiết Sài đất ba thùy

Vi khuẩn thử nghiệm	Cao chiết	Đường kính vùng ức chế (mm)				MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MBC ($\mu\text{g/mL}$)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình		
<i>E. coli</i> (25922)	45%	19.0	18.0	19.0	18.67 ± 0.58	1,250.0	2,500
	70%	16.0	18.0	17.0	17.00 ± 1.00	1,250.0	2,500
	(+)	35.0	36.0	35.0	35.33 ± 0.58	0.5	2.0
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>S. aureus</i> (25953)	45%	13.0	14.0	12.0	13.00 ± 1.00	625.0	2,500
	70%	12.0	13.0	12.0	12.33 ± 0.58	625.0	2,500
	(+)	32.0	31.0	31.0	31.33 ± 0.58	0.25	1.0
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>P. aeruginosa</i> (10145)	45%	16.0	17.0	17.0	16.67 ± 0.58	2,500.0	5,000
	70%	16.0	16.0	15.0	15.67 ± 0.58	2,500.0	5,000
	(+)	36.0	36.0	35.0	35.67 ± 0.58	0.0625	0.5
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>S. typhimurium</i> (14028)	45%	17.0	16.0	17.0	16.67 ± 0.58	625.0	2,500
	70%	15.0	16.0	15.0	15.33 ± 0.58	625.0	2,500
	(+)	34.0	33.0	34.0	33.67 ± 0.58	0.25	1.0
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>K. pneumoniae</i> (13439)	45%	17.0	16.0	16.0	16.33 ± 0.58	625.0	2,500
	70%	15.0	16.0	15.0	15.33 ± 0.58	625.0	2,500
	(+)	17.0	16.0	15.0	16.00 ± 1.00	1.0	2.0
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-

3.3. Khả năng ức chế vi nấm của các cao chiết Sài đất ba thù

Kết quả khảo sát khả năng ức chế vi nấm của hai cao chiết ethanol 45% và 70% từ *W. trilobata* được thể hiện trong Bảng 3. Các chủng nấm thử gồm *Candida albicans* ATCC 10231, *Microsporum gypseum* ATCC 14683, *Microsporum cookei* ATCC 36299, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 và *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533. Trong số này, chỉ hai chủng dermatophyte (*T. rubrum* và

T. mentagrophytes) bị ức chế đáng kể bởi cao ethanol 45%, với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt 12.33 ± 0.58 mm và 15.67 ± 0.58 mm. Cao ethanol 70% hầu như không tạo vòng ức chế rõ ràng trên các chủng còn lại. MIC của cao 45% đối với *T. mentagrophytes* đạt 625 $\mu\text{g/mL}$, trong khi MFC ở mức 2,500 $\mu\text{g/mL}$; với các chủng khác, MIC vượt quá 2,500 $\mu\text{g/mL}$, cho thấy hoạt tính kháng nấm tương đối yếu.

Bảng 3. Khả năng ức chế vi nấm của các cao chiết Sài đất ba thù

Vi nấm thử nghiệm	Cao chiết	Đường kính vùng ức chế (mm)				MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MFC ($\mu\text{g/mL}$)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình		
<i>C. albicans</i>	45%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	70%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	(+)	16.0	16.0	17.0	16.33 ± 0.58	-	-
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>M. gypseum</i>	45%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	70%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	(+)	15.0	13.0	14.0	14.00 ± 1.00	-	-
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>M. cookei</i> Ajello anamorph	45%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	70%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	(+)	16.0	16.0	15.0	15.67 ± 0.58	-	-
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>T. rubrum</i>	45%	13.0	12.0	14.0	13.00 ± 1.00	-	-
	70%	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
	(+)	25.0	24.0	22.0	23.67 ± 1.53	-	-
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-
<i>T. mentagrophytes</i>	45%	15.0	16.0	15.0	15.33 ± 0.58	625.0	2,500.0
	70%	14.0	15.0	14.0	14.33 ± 0.58	625.0	2,500.0
	(+)	22.0	25.0	24.0	23.67 ± 1.53	0.0938	0.75
	(-)	0.0	0.0	0.0	0.00 ± 0.00	-	-

Về phương diện ứng dụng, kết quả cho thấy tiềm năng sử dụng cao chiết 45% trong điều trị các bệnh

nấm da do *Trichophyton* spp., như hắc bào hay nấm kẽ chân, ở dạng thuốc bôi hoặc dung dịch rửa. Tuy

nhiên, cần tiến hành phân đoạn chi tiết để xác định hợp chất hoặc nhóm hợp chất chịu trách nhiệm chính cho tác dụng này, cũng như thử nghiệm độc tính tế bào da để đảm bảo tính an toàn trước khi ứng dụng lâm sàng.

4. BÀN LUẬN

Kết quả định tính cho thấy sự khác biệt trong thành phần giữa cao chiết ethanol 45% và 70% do ảnh hưởng của độ phân cực dung môi: Ethanol 45% có độ phân cực cao hơn, giúp tách tốt các triterpenoid tồn tại ở dạng glycoside hoặc dạng phân cực cao hơn do hàm lượng nước lớn, thích hợp để hòa tan các nhóm hợp chất phenolic, glycoside và đặc biệt là các triterpenoid saponin (dạng kết hợp với đường). Do đó, phản ứng Liebermann-Burchard cho kết quả dương tính với triterpenoid (+) nhưng âm tính với steroid tự do (-). Ngược lại, ethanol 70% có độ phân cực thấp hơn, ưu tiên hòa tan các steroid tự do (phytosterol) có tính sơ dầu cao nên tan tốt hơn trong hệ dung môi này. Điều này dẫn đến kết quả dương tính với steroid (+) và âm tính với triterpenoid (-) trong điều kiện thực nghiệm. Cao 45% cho kết quả (+) trong khi cao 70% cho (-) ở mục này phản ánh nồng độ tổng các dẫn xuất terpenoid phân cực trong cao 45% đạt ngưỡng phát hiện của thuốc thử Vanillin/H₂SO₄ tốt hơn so với cao 70%. Việc lựa chọn nồng độ ethanol là yếu tố quan trọng quyết định hàm lượng và phổ hợp chất thu được.

Nhìn chung, phổ hóa thực vật của *W. trilobata* tương tự với nhiều loài cùng họ Cúc (Asteraceae), vốn được biết là giàu polyphenol, flavonoid, terpenoid và coumarin, những nhóm hợp chất thường có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và chống oxy hóa mạnh. Kết quả định tính cung cấp cơ sở để lý giải cho những hoạt tính sinh học ở các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) cho thấy MIC của các cao dao động từ 625 đến 2,500 µg/mL, còn MBC thường gấp 2 - 4 lần giá trị MIC. Trong đó, *S. aureus* và *K. pneumoniae* thể hiện độ nhạy cao nhất (MIC = 625 µg/mL), trong khi *P. aeruginosa* và *E. coli* kháng hơn (MIC = 1,250 - 2,500 µg/mL). So với thuốc đối chứng chloramphenicol (MIC 31.25 µg/mL), các cao chiết thể hiện hoạt tính ở mức trung bình. Điều này được lý giải bởi bản chất của cao thô chứa hỗn hợp nhiều hợp chất, trong đó chỉ

một phần nhỏ có khả năng kháng khuẩn thực sự. Một nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của cao chiết ethanol từ Sài đất ba thùy cho thấy có khả năng ức chế *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Xanthomonas axanopodis*, *X. oryzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Trong nghiên cứu này cũng xác nhận khả năng ức chế các vi khuẩn Gram dương (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*) và Gram âm (*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella group C*, *S. paratyphi*, *Shigella sonnei*) của cao n-hexan từ phần trên mặt đất (không hoa) của Sài đất ba thùy. Đáng chú ý là khả năng kháng *Mycobacterium smegmatis* vì đây là chủng vi khuẩn không gây bệnh, mô hình thay thế trong nghiên cứu bệnh lao (*Mycobacterium tuberculosis*) [14]. Sự khác biệt về hiệu quả giữa hai dung môi có thể liên quan đến sự phân bố các nhóm hợp chất. Cao ethanol 45% chứa nhiều saponin, alkaloid và terpenoid - những nhóm được biết có khả năng phá vỡ màng tế bào và ức chế tổng hợp protein của vi khuẩn. Trong khi cao 70% giàu steroid và flavonoid, thường có tác dụng kim khuẩn hoặc chống oxy hóa hơn là diệt khuẩn trực tiếp. Điều này cho thấy lựa chọn dung môi chiết có thể định hướng hoạt tính kháng khuẩn theo cơ chế khác nhau. Mặc dù thành phần hóa học của hai loại cao chiết có sự khác biệt, nhưng giá trị MIC và MBC tương đối tương đồng, điều này cho thấy hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết phụ thuộc vào tác động phối hợp giữa nhiều nhóm hợp chất có mặt, trong đó sự hiệp đồng hoặc bù trừ giữa các hợp chất có thể làm giảm sự khác biệt về hiệu lực đo được giữa hai cao chiết, dẫn đến kết quả giá trị MIC và MBC tương đối tương đồng.

So sánh với các nghiên cứu trước về chi *Wedelia*, có thể thấy kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các báo cáo đã được ghi nhận, rằng các cao chiết thô ethanol hoặc methanol của các loài trong chi thường thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở mức trung bình, với giá trị MIC dao động trong khoảng từ vài trăm đến vài nghìn µg/mL. Điều này cho thấy cao ethanol 45% trong nghiên cứu này có hiệu quả tương đương các cao methanol hoặc ethanol thô từ các loài cùng chi, mặc dù vẫn thấp hơn đáng kể so với các phân đoạn tinh sạch. Ngoài ra, khi so sánh với các loài khác trong họ

Cúc, như *Ageratum conyzoides*, *Chromolaena odorata* hay *Tagetes erecta*, mức độ hoạt tính kháng khuẩn của *W. trilobata* tương đương hoặc thấp hơn một chút. Chẳng hạn, *A. conyzoides* có MIC 125 - 500 µg/mL đối với *S. aureus* và *E. coli* [15]. Tuy nhiên, các kết quả đó thường đến từ phân đoạn chiết giàu terpenoid hoặc tinh dầu, trong khi cao ethanol thô của nghiên cứu này chủ yếu phản ánh tổng hoạt tính của toàn phần hợp chất hòa tan.

Nhìn chung, kết quả nghiên cứu cho thấy *W. trilobata* có tiềm năng kháng khuẩn phổ rộng, đặc biệt với các chủng Gram dương (*S. aureus*), song hiệu quả chưa cao do cao chưa được tinh sạch. Hướng phát triển tiếp theo là tách phân đoạn giàu diterpenoid hoặc flavonoid đặc hiệu nhằm tăng cường hoạt tính và giảm MIC, qua đó mở rộng ứng dụng trong bào chế dược phẩm hoặc chế phẩm kháng khuẩn tự nhiên.

Sự khác biệt về hiệu quả ức chế vi nấm giữa hai cao chiết có thể liên quan đến thành phần terpenoid, alkaloid và saponin cao hơn trong dung môi 45% ethanol. Các hợp chất này được chứng minh có khả năng gây biến tính màng tế bào nấm, tăng tính thấm màng và rò rỉ ion nội bào. Tuy nhiên, hàm lượng của các hợp chất này trong cao thô còn thấp, nên tác dụng bị giới hạn. Việc không ghi nhận hiệu quả đáng kể trên *Candida albicans* và *Microsporum* spp. cho thấy *W. trilobata* có phổ kháng nấm hẹp, chủ yếu trên một số loài dermatophyte gây bệnh ngoài da.

Một nghiên cứu kháng nấm từ Sài đất ba thù đã cho thấy cao ethanol từ thân, lá và hoa chỉ ức chế yếu các loài *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. flaviceps*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides* và không có tác dụng rõ rệt với *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra* hay *Trichophyton rubrum* [7]. Chỉ một số phân đoạn ent-kaurane diterpenoid của *W. trilobata* có tác dụng yếu trên *Candida albicans* (MIC 500 - 1,000 µg/mL), trong khi các phân đoạn giàu sesquiterpene không thể hiện

hoạt tính đáng kể [7]. Như vậy, các kết quả trong nghiên cứu này nằm trong phạm vi giá trị đã được công bố đối với các loài cùng chi, khẳng định độ tin cậy của dữ liệu thực nghiệm.

So sánh rộng hơn trong họ Cúc, một số loài như *Artemisia annua* hay *Eclipta prostrata* thể hiện hoạt tính kháng nấm mạnh hơn, với MIC dưới 100 µg/mL trên *Candida* spp. hoặc *Aspergillus* spp.. Tuy nhiên, những hoạt tính này thường đến từ tinh dầu giàu monoterpene và sesquiterpene lacton có tính bay hơi cao.

5. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết ethanol 45% từ phần trên mặt đất của Sài đất ba thù (*Wedelia trilobata*) có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm chọn lọc ở mức trung bình, đặc biệt hiệu quả trên *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Trichophyton mentagrophytes* và *T. rubrum*. Sự hiện diện của các hợp chất flavonoid, saponin, alkaloid, tannin và terpenoid được xem là yếu tố góp phần tạo nên tác dụng này.

Mặc dù mức độ ức chế chưa mạnh so với thuốc kháng sinh và kháng nấm chuẩn, nhưng kết quả cho thấy tiềm năng ứng dụng của Sài đất ba thù như nguồn nguyên liệu tự nhiên cho các chế phẩm kháng khuẩn và kháng nấm dùng ngoài da. Tuy nhiên, hoạt tính trên các chủng vi khuẩn Gram âm và nấm men còn hạn chế, đồng thời các thử nghiệm độc tính tế bào da, khả năng kích ứng và thẩm thấu qua da chưa được đánh giá. Hướng nghiên cứu tiếp theo nên tập trung vào phân đoạn tinh sạch các hợp chất hoạt tính, khảo sát cơ chế tác dụng và đánh giá độc tính tế bào da, từ đó định hướng phát triển các sản phẩm dược mỹ phẩm tự nhiên an toàn, thân thiện với người dùng và có giá trị ứng dụng thực tiễn.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài nghiên cứu khoa học này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC18.29.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] T. K. Swetha and S. K. Pandian, "Role of Bacteria in Dermatological Infections," *CRC Press*, pp. 279-318, Feb. 2019.

[2] S. Gavanji, M. J. Asgari, R. Vaezi, and B. Larki, "Antifungal effect of the extract of propolis on the

growth of three species of *Epidermophyton flucosum*, *Trichophyton violaceum* and *Trichophyton tonsorans* in laboratory environment," vol. 5, no. 24, pp. 2642-2646, 2011.

[3] T. C. Vân and N. H. Sáu, "Tỉ lệ mắc bệnh và một

số yếu tố liên quan của bệnh nấm nông trên các bệnh nhân đến khám tại bệnh viện da liễu trung ương trong giai đoạn 2017-2019," *Vietnam Medical Journal, Vietnam Medical Association*, vol. 535, no. 1B, Feb. 2024.

[4] C. J. Murray *et al.*, "Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis," *Elsevier B.V.*, vol. 399, no. 10325, pp. 629-655, Feb. 2022.

[5] S. F. AlAmery, "Phytochemical profile and antifungal activity of stems and leaves methanol extract from the *Juncus maritimus* Linn. Juncaceae family against some dermatophytes fungi," in *AIP Conference Proceedings*, AIP Publishing, 2020.

[6] V. V. Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam, Từ điển cây thuốc Việt Nam*, 2004.

[7] N. Balekar, T. Nakpheng, and T. Srichana, "*Wedelia trilobata* L.: A phytochemical and pharmacological review," *Chiang Mai J. Sci*, vol. 41, no. 3, pp. 590-605, 2014.

[8] S. Langhi *et al.*, "Pharmacognostic and phytochemical investigation of *Wedelia trilobata* leaves," *International Journal of Herbal Medicine*, vol. 8, no. 4, pp. 129-133, 2020.

[9] A. Taddei and A. J. Rosas-Romero, "Antimicrobial activity of *Wedelia trilobata* crude

extracts," *Elsevier*, vol. 6, no. 2, pp. 133-134, 1999.

[10] N. Balekar, N. G. Katkam, T. Nakpheng, K. Jehtae, and T. Srichana, "Evaluation of the wound healing potential of *Wedelia trilobata* (L.) leaves," *Elsevier*, vol. 141, no. 3, pp. 817-824, 2012.

[11] Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam V tập 2*, 2017.

[12] T. J. Hossain, "Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations," *Akadémiiai Kiadó Budapest*, vol. 14, no. 2, pp. 97-115, 2024.

[13] C. and L. S. Institute, "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing," *Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA*, 2020.

[14] M. Govindappa *et al.*, "Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc," *Academic Journals*, vol. 5, no. 24, pp. 5718-5729, 2011.

[15] O. A. Omole, J. O. Oladipo, B. O. Orimolade, O. O. Ajetomobi, K. S. Olorunmaiye, and O. O. Dosumu, "Anti-Oxidant and Anti-Microbial Activities of the Root and Leaf Extracts of *Ageratum conyzoides* L.," *Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet Zagreb*, vol. 84, no. 3, pp. 295-304, 2019.

Antimicrobial activity against skin pathogens of the extract from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc

Dinh Thi Thu Huong, Bui Thanh Phong, Tran Huu Thanh, Huynh Minh Hung, Truong Ngoc Bao Tram

ABSTRACT

Background: Skin infections caused by bacteria and fungi are common in tropical regions. Overuse of synthetic antibiotics and antifungals has led to antimicrobial resistance, prompting interest in plant-derived natural agents with lower toxicity. **Objective:** This study aimed to evaluate the antibacterial and antifungal activities of 45% and 70% ethanol extracts from the aerial parts of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc against common skin pathogens. **Methods:** Extracts were obtained by ethanol maceration, screened for phytochemical constituents, and tested for antimicrobial activity using agar well diffusion and microdilution assays to determine MIC, MBC, and MFC values. **Results:** Both extracts contained flavonoids, saponins, and reducing sugars; the 45% extract additionally contained alkaloids, tannins, triterpenoids, and terpenoids. The 45% ethanol extract exhibited stronger antibacterial activity (MIC 625 - 2,500 µg/mL), particularly against *S. aureus* and *K. pneumoniae*, as well as moderate antifungal

effects against T. mentagrophytes and T. rubrum (MIC = 625 µg/mL). Conclusion: The 45% ethanol extract of W. trilobata demonstrated moderate and selective antimicrobial potential, suggesting its applicability as a natural topical agent for managing skin infections.

Keywords: *Wedelia trilobata, antibacterial, antifungal, skin pathogens*

Received: 01/11/2025

Revised: 23/12/2025

Accepted for publication: 26/12/2025