

# TÁC DỤNG PHỤC HỒI VẾT BỎNG CỦA DỊCH CHIẾT LÁ CÂY NGŨ SẮC (*AGERATUM CONYZOIDES* L., *ASTERACEAE*) TRONG MỘT SỐ DUNG MÔI TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

NGUYỄN VĂN RŨ,  
NGUYỄN XUÂN BẮC, MAI THỊ THU HOÀI  
Trường Đại học Dược Hà Nội

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ngũ sắc là loài cây rất phổ biến ở nhiều vùng trên đất nước ta, đã được nghiên cứu, sử dụng trong điều trị viêm xoang dị ứng và một số bệnh khác như chảy máu ngoài do chấn thương, mụn nhọt, lở ngứa, eczema... Theo một số tài liệu quốc tế đã nghiên cứu cho thấy dịch chiết lá cây ngũ sắc có tác dụng phục hồi vết bỏng. Tuy nhiên, hiện nay ở Việt Nam chưa có tài liệu và nghiên cứu nào đánh giá tác dụng phục hồi vết bỏng của cây ngũ sắc. Trong khi đó tổn thương do bỏng có xu hướng ngày càng tăng và chi phí điều trị thường là khá lớn, nhất là khi xử lý chậm. Việc sử dụng các nguồn dược liệu sẵn có để điều trị bỏng ngay từ đầu sẽ góp phần làm giảm các biến chứng, di chứng do bỏng và giảm chi phí điều trị. Vì vậy chúng tôi tiến hành xác định một số thành phần hoá học của một số dịch chiết lá cây ngũ sắc; đánh giá tác dụng chữa bỏng trên động vật thí nghiệm và khả năng kháng một số vi khuẩn và vi nấm kiểm định của các dịch chiết này với mong muốn tìm được một số cơ sở khoa học trong việc sử dụng cây ngũ sắc để phục hồi vết thương do bỏng, tăng khả năng ứng dụng dược liệu rất sẵn có này của Việt Nam.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu nghiên cứu.

Các loại dịch chiết lá cây ngũ sắc (*Ageratum conyzoides* L., họ Cúc – Asteraceae - được thu hái tại Ninh Bình tháng 2/2009), gồm dịch chiết lá cây ngũ sắc bằng nước, bằng Ethanol 70°, và bằng Methanol.

### 2. Phương tiện nghiên cứu.

Hoá chất: Các hóa chất, thuốc thử dùng trong nghiên cứu đạt tiêu chuẩn phân tích hóa học.

Thiết bị, dụng cụ: bình ngưng kiệt, nồi cách thuỷ, nồi hấp, tủ giữ ấm, tủ cấy truyền, và các thiết bị, dụng cụ thí nghiệm khác.

Động vật: chuột nhắt trắng đực (*Mumus culus*, chủng Swiss), trọng lượng 22-26g, do Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Vi sinh vật: tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus* ATCC 1128 ), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albican* do bộ môn Vi sinh và Sinh học – trường ĐH Dược Hà Nội cung cấp.

Môi trường thử nghiệm vi sinh vật: Môi trường canh thang, thạch thường, Sabouraud lỏng và Sabouraud đặc.

### 3. Phương pháp nghiên cứu.

- Chiết xuất tạo các loại dịch chiết lá cây ngũ sắc [1]:

+ Dịch chiết lá cây ngũ sắc bằng nước (Dc-N): Ngâm bột lá cây ngũ sắc bằng nước cất ở 40°C trong 24 giờ, gạn lấy dịch 1, bã dược liệu tiếp tục được ngâm với nước cất ở 40°C trong 24 giờ rồi gạn lấy dịch 2. Lọc dịch 1 và 2, gộp lại để cô cách thuỷ đến cao lỏng 1/1.

+ Dịch chiết lá cây ngũ sắc bằng Ethanol (Dc-E): Ngâm bột lá cây ngũ sắc với EtOH 70° ở nhiệt độ thường trong 24 giờ rồi gạn lấy dịch 1. Bã dược liệu tiếp tục được ngâm với EtOH 70° ở nhiệt độ thường

sau 24 giờ gạn lấy dịch 2. Lọc dịch 1 và 2, gộp lại để cô cách thủy đến cao lỏng 1/1.

+ Dịch chiết Methanol (Dc-M): Ngâm bột lá cây ngũ sắc với MeOH ở nhiệt độ thường trong 24 giờ rồi gạn lấy dịch 1. Bã dược liệu tiếp tục được ngâm với MeOH ở nhiệt độ thường, sau 24 giờ gạn lấy dịch 2. Lọc dịch 1 và 2, gộp lại để cô cách thủy đến cao lỏng 1/1.

- Xác định thành phần hoá học chính của lá cây ngũ sắc: Theo phương pháp định tính alkaloid, tanin, saponin, flavonoid ghi trong dược điển Việt Nam 3.

- Thử tác dụng sinh học.

+ Gây bỏng trên chuột thí nghiệm: Dùng một bản sắt (1x1 cm) đã được làm nóng bằng ngọn lửa đèn cồn trong thời gian 30 giây áp vào phần da chuột đã được cạo sạch lông.

+ Tiến hành nghiên cứu tác dụng chữa bỏng trên chuột gây bỏng thực nghiệm:

Chuột nghiên cứu được chia thành 8 lô (mỗi lô 7 con): 1 (lô chứng C): không bôi thuốc; 2 (lô thử T1): bôi Dc-N (1 lần/24 giờ); 3 (lô thử T2): bôi Dc-M (1 lần/24 giờ); 4 (lô thử 3): bôi Dc-E (1 lần/24 giờ); 5 (lô thử 4): bôi thuốc mỡ Tetracyclin 1% (1 lần/24 giờ); 6 (lô thử 5): bôi thuốc mỡ Tetracyclin 1% trộn với Dc-M (1 lần/24 giờ); 7 (lô thử 6): bôi thuốc mỡ Tetracyclin 1% trộn với Dc-E (1 lần/24 giờ); 8 (lô so sánh S): bôi thuốc chữa bỏng Panthenol (1 lần/24 giờ).

Theo dõi sự biến đổi bên ngoài vết bỏng và xác định sự thay đổi diện tích vết bỏng trên chuột thực nghiệm (1 lần/24 giờ). Xác định mức độ giảm diện tích vết bỏng thời gian lành da hoàn toàn của chuột thí nghiệm.

+ Thử tác dụng ức chế vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường đặc [3, 5] khoan giấy đường kính 7,00 mm hấp tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút, tẩm dịch chiết lá cây ngũ sắc, đặt khoan giấy lên bề mặt môi trường đã cấy vi sinh vật kiểm định với tỷ lệ 1ml hỗn dịch có mật độ  $10^6-10^7$  tế bào vào đĩa petri có 10 ml môi trường. Đặt các hộp petri đó vào tủ ấm 37°C trong 24 giờ đối với vi khuẩn và 48 giờ đối với vi nấm.

Cách tính kết quả: sau thời gian ủ, lấy các hộp petri ra quan sát, đo đường kính vòng vô khuẩn (nếu có) bằng thước kẹp palmer có độ chính xác tới 0,1mm. Độ kháng khuẩn tỷ lệ với logarit đường kính vòng vô khuẩn.

- Phương pháp xử lý số liệu: bằng phương pháp thống kê sinh học với test Student có sự trợ giúp của Excel.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Xác định thành phần hoá học chính của lá cây ngũ sắc.

Bảng 1. Tóm tắt kết quả phản ứng màu định tính các dịch chiết lá cây ngũ sắc

STT	Thành phần hoá học	Dc-N	Dc-M	Dc-E
1	Alkaloid	+	+	+
2	Tanin	+++	++	+
3	Saponin	+	+++	++
4	Flavonoid	+	++	+++

Ghi chú: (+) là phản ứng tạo màu dương tính tối thiểu.

(+++) là phản ứng tạo màu dương tính tối đa.

Các dịch chiết lá cây ngũ sắc đều có 4 thành phần: alkaloid, tanin, saponin, flavonoid. Tanin có nhiều nhất trong Dc-N. Saponin có nhiều nhất trong Dc-M. Flavonoid có nhiều nhất trong Dc-E.

### 2. Đánh giá tác dụng chữa bỏng của một số DC lá cây ngũ sắc.

Bảng 2. Tổng thời gian tái tạo da của vết thương do bỏng

Chỉ số Lô	Thời gian (ngày) (M ± SE)	p so với lô chứng	p so sánh với lô so sánh
C	7,80 ± 0,20		
T1	6,60 ± 0,24	p < 0,05	p < 0,01
T2	2,80 ± 0,20	p < 0,01	p > 0,05
T3	4,80 ± 0,20	p < 0,01	p < 0,01
T4	6,80 ± 0,20	p < 0,05	p < 0,01
T5	3,80 ± 0,20	p < 0,01	p < 0,01
T6	5,60 ± 0,24	p < 0,01	p < 0,01
S	2,60 ± 0,24	p < 0,01	

Ghi chú: M là giá trị trung bình thời gian tái tạo da của một lô chuột thí nghiệm.

SE: Sai số chuẩn của giá trị trung bình.

Chuột của các lô thử được bôi dịch chiết lá cây ngũ sắc (Dc-N, Dc-M, Dc-E) hoặc kết hợp dịch chiết với thuốc mỡ Tetracyclin đều có tổng thời gian lành da tại vết bỏng nhanh hơn có ý nghĩa thống kê (p<0,05) so với chuột không được bôi dịch chiết. Tất cả các lô thử (trừ lô điều trị bằng dịch chiết Methanol) đều có thời gian liền da hoàn toàn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô so sánh (chuột được bôi thuốc trị bỏng Panthenol).

Bảng 3. Diện tích vết bỏng trên chuột thí nghiệm trong thời gian thử nghiệm

Chỉ số Lô	Diện tích bỏng (M ± SE cm <sup>2</sup> )			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
C	0,90±0,04	0,72±0,08	0,57±0,04	0,31 ± 0,06
T1	0,83±0,03	0,64±0,06	0,53±0,04	0,32 ± 0,08
T2	0,35±0,09	0,03±0,01	0,00±0,00	
T3	0,60±0,07	0,40±0,05	0,18±0,04	0,05 ± 0,01
T4	0,72±0,04	0,56±0,05	0,35±0,04	0,20 ± 0,04
T5	0,57±0,08	0,32±0,10	0,03±0,01	0,00± 0,00
T6	0,66±0,08	0,44±0,07	0,29±0,05	0,13 ± 0,04
S	0,46±0,09	0,05±0,02	0,00± 0,00	

Ghi chú: M là giá trị trung bình của diện tích vết bỏng trên chuột thí nghiệm

SE là sai số chuẩn của giá trị trung bình

Bảng 4. Mức độ giảm diện tích bỏng của các lô thử so với lô chứng

Lô	Sau 1 ngày		Sau 2 ngày		Sau 3 ngày		Sau 4 ngày	
	M <sub>1</sub> (%)	p	M <sub>1</sub> (%)	p	M <sub>1</sub> (%)	p	M <sub>1</sub> (%)	P
T1	7,78	> 0,05	11,11	> 0,05	7,02	> 0,05	- 3,23	> 0,05
T2	61,11	< 0,05	95,83	< 0,05	100,00			
T3	33,33	< 0,05	44,44	< 0,05	68,42	< 0,05	83,87	< 0,05
T4	20,00	< 0,05	22,22	> 0,05	38,60	< 0,05	35,48	> 0,05
T5	36,67	< 0,05	55,56	< 0,05	94,74	< 0,05	100,00	
T6	26,67	< 0,05	38,89	< 0,05	49,12	< 0,05	58,06	< 0,05

Trong đó:

$$M_1\% = \frac{S_{ci} - S_{ti}}{S_{ci}} \times 100\%$$

M<sub>1</sub> là mức độ giảm diện tích vết bỏng của chuột lô thử so với lô chứng

S<sub>ci</sub> là diện tích bỏng của lô chứng sau ngày thứ i (cm<sup>2</sup>)

S<sub>ti</sub> là diện tích bỏng của lô thử thuốc sau ngày thứ i (cm<sup>2</sup>)

Bảng 5. Mức độ giảm diện tích vết bỏng so với lô so sánh

Lô	Sau 1 ngày		Sau 2 ngày	
	M <sub>2</sub> (%)	P	M <sub>2</sub> (%)	p
T1	- 80,43	< 0,05	- 1180,00	< 0,05
T2	23,91	> 0,05	40,00	> 0,05
T3	- 30,43	> 0,05	- 700,00	< 0,05
T4	- 56,52	> 0,05	- 1020,00	< 0,05
T5	- 23,91	> 0,05	- 540,00	> 0,05
T6	- 43,48	> 0,05	- 780,00	< 0,05

Trong đó:  $M_2\% = \frac{S_{ssi} - S_{ti}}{S_{ssi}} \times 100\%$

M<sub>2</sub> là mức độ giảm diện tích vết bỏng của chuột lô thử so với lô so sánh

S<sub>ssi</sub> là diện tích bỏng của lô so sánh sau ngày thứ i (cm<sup>2</sup>)

S<sub>ti</sub> là diện tích bỏng của lô thử thuốc sau ngày thứ i (cm<sup>2</sup>)

### 3. Tác dụng ức chế vi sinh vật kiểm định của dịch chiết lá cây ngũ sắc.

STT	Vi sinh vật	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			
		DC nước	DC MeOH	DC EtOH	Kháng sinh chuẩn
1	Staphylococcus aureus ATCC 1128	-	-	-	15,24 ± 0,25
2	Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-	22,12 ± 0,42
3	Candida albican	-	-	-	-

Các dịch chiết của lá cây ngũ sắc trong các dung môi trong thử nghiệm này chưa thấy có tác dụng ức chế 2 loại vi khuẩn và 1 loại vi nấm đã thử nghiệm.

### BÀN LUẬN

Hiện nay, lá cây ngũ sắc trong y học được cổ truyền và các nghiên cứu gần đây chủ yếu được sử

dụng để điều trị bệnh viêm xoang mà rất ít khi được sử dụng trong điều trị chấn thương phục hồi vết bỏng. Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên về tác dụng làm lành vết bỏng ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy các dịch chiết lá cây ngũ sắc có tác dụng tốt trong việc làm tái tạo da, như vậy có thể mở ra hướng nghiên cứu tác dụng điều trị bỏng và tác dụng chống viêm trên da của lá cây ngũ sắc. Hơn nữa, việc phát hiện ra tác dụng điều trị bỏng của lá cây ngũ sắc cũng có ý nghĩa rất lớn trong việc đưa cây ngũ sắc trở thành một dược liệu được dùng chữa bỏng, góp phần nâng cao hiệu quả điều trị và giảm chi phí trong điều trị bỏng tại các địa phương.

### KẾT LUẬN

Lá cây ngũ sắc (*Ageratum conyzoides* L., Asteraceae) có chứa các hợp chất hoá học: alkaloid, saponin, flavonoid, tanin.

Dịch chiết lá cây ngũ sắc trong nước, trong Methanol và trong Ethanol đều có tác dụng làm nhanh lành vết thương do bỏng nhiệt. Dịch chiết trong Methanol có thời gian làm lành vết bỏng nhanh nhất (2,80 ± 0,20 ngày, so với lô chứng có p < 0,01).

Các dịch chiết lá cây ngũ sắc chưa có tác dụng ức chế các vi khuẩn, vi nấm thường gặp: *Staphylococcus aureus* ATCC 1128, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albican*.

### SUMMARY

*Ageratum conyzoides* L. is widely used in a lot of countries to treat various diseases. In VietNam, it is mainly used to treat sinusitis. The results of our research showed that *Ageratum conyzoides* L. in VietNam has good effect in treating burns. This is the first time the efficacy of *Ageratum conyzoides* L. to treat burns has been proven in VietNam. This result will accelerate the use of *Ageratum conyzoides* L. in treating burns in VietNam.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2002), *Dược điển Việt Nam III*.
- Bộ môn Vi sinh và sinh học (2006), *Vi sinh vật học*, Trường Đại học Dược Hà Nội.
- Durodola J.J. (1977), "Antibacterial property of crude extracts from herbal wound healing remedy - *Ageratum conyzoides*", *Planta Med.*, 32, p. 388 - 390.
- Kabir O Akinyemi (2005), "Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South - West Nigerian unorthodox medicine for anti - methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 5, p. 5 - 6.