

Khả năng ức chế *Helicobacter pylori* của một số mẫu cao chiết methanol từ thực vật thu tại tỉnh Lâm Đồng

Phan Nhã Hòa^{1*}, Phạm Bảo Yên²

¹Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

²Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 28/10/2021; ngày chuyển phản biện 1/11/2021; ngày nhận phản biện 26/11/2021; ngày chấp nhận đăng 30/11/2021

Tóm tắt:

Helicobacter pylori được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) xếp vào nhóm nguyên nhân loại I dẫn đến ung thư dạ dày. Trong dân gian đã có nhiều bài thuốc từ thảo dược được sử dụng để điều trị các bệnh liên quan đến dạ dày. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã đánh giá khả năng ức chế *H. pylori* *in vitro* của một số mẫu cao chiết methanol thực vật thu tại tỉnh Lâm Đồng bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Kết quả nghiên cứu xác định được 10 mẫu cao chiết thực vật có khả năng ức chế *H. pylori* tại nồng độ 100 mg/ml, trong đó có 5 mẫu ức chế 100% (Hoàng liên gai, Cóc kền Mã Lai, Tràng quả trái, An điền mềm, Aralia) và 5 mẫu ức chế với đường kính vòng vô khuẩn 6-7 mm (Mạo dài, Chua ngút, Vàng lô bụi, Móng tai Langbiang, Hoa anh đào). Đây là những kết quả đầu tiên về tác dụng kháng *H. pylori* của các loài thực vật và là cơ sở để tiếp tục tìm kiếm các mẫu có tiềm năng phát triển làm thuốc điều trị *H. pylori* tại Việt Nam.

Từ khóa: cao chiết methanol thực vật, *H. pylori*, khả năng ức chế vi khuẩn.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

H. pylori là một vi khuẩn xoắn ốc, gram âm, được phát hiện lần đầu vào năm 1984 và là một trong những vi khuẩn gây bệnh mãn tính phổ biến nhất ở người [1]. Khoảng hơn 50% số người trên thế giới bị nhiễm và tỷ lệ nhiễm bệnh ở các nước đang phát triển cao hơn nhiều so với các nước phát triển [2]. Nhiễm *H. pylori* là một nguyên nhân chính thường dẫn đến viêm dạ dày mãn tính, loét dạ dày, tá tràng. Dữ liệu dịch tễ học cho thấy, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao dẫn đến tỷ lệ mắc ung thư dạ dày và ung thư biểu mô [3, 4]. Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế của WHO đã xếp *H. pylori* là nguyên nhân gây ung thư loại I, nhiều nghiên cứu cho thấy, *H. pylori* làm tăng nguy cơ ung thư dạ dày [5]. Phác đồ điều trị *H. pylori* thường kết hợp các loại thuốc khác nhau như: kháng sinh, ức chế bơm proton, khóa thụ thể H₂ và các muối bismuth mang lại hiệu quả lên đến 90%. Tuy nhiên, khi điều trị theo các phác đồ kháng sinh thường dẫn đến một số tác dụng phụ không mong muốn như: loạn khuẩn đường ruột, nhiễm khuẩn các cơ quan, đặc biệt là hiện tượng kháng kháng sinh của các chủng *H. pylori* ngày càng tăng [6]. Từ ngàn năm trước, nhiều loài thực vật đã được sử dụng làm thuốc [7]. Phân lập và sinh hóa đặc điểm của các hợp chất có hoạt tính được lý từ cây thuốc vẫn được tiếp tục cho đến ngày nay [8, 9]. Trong những năm gần đây, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng nhiễm *H. pylori* có thể được ức chế thông qua việc sử dụng cây thuốc [10-12].

Ở Việt Nam, trong thời gian gần đây đã có nghiên cứu sàng lọc, đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn *H. pylori* của một số dịch chiết thảo dược Việt Nam [7]. Kết quả cho thấy, trong số 30 mẫu

thảo dược nghiên cứu, 10 mẫu có hoạt tính kháng *H. pylori* mạnh như: Đỗ rùng, Nghệ đen, Trầu không, Quế chi, Bắc mộc hương, Kim ngân hoa, Tô mộc, Sa nhân, Chè dây và Dạ cẩm. Như vậy, nếu mở rộng quy mô sàng lọc theo hoạt tính này, sẽ còn phát hiện nhiều loài được liệu có tiềm năng sử dụng trong điều trị *H. pylori*.

Lâm Đồng có nguồn tài nguyên thực vật, cây thuốc vô cùng đa dạng. Các kết quả nghiên cứu trước đây tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên đã xây dựng danh mục cây thuốc và cây có khả năng làm thuốc của 1003 loài thu thập ở Lâm Đồng cùng với tiêu bản và ngân hàng dịch chiết của tất cả các loài thu thập được [13]. Các khảo sát, sàng lọc hoạt tính sinh học trước đây chỉ mới thực hiện trên 200 mẫu dịch chiết chọn lọc với các hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và gây độc tế bào [13]. Do đó, việc nghiên cứu, áp dụng các phương pháp thử hoạt tính khác là cần thiết mà cụ thể trong nghiên cứu này là hoạt tính kháng *H. pylori* để tìm kiếm những loài thực vật có tiềm năng sử dụng trong điều trị *H. pylori* ở Việt Nam.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu và hóa chất

Vật liệu: lá và cành nhỏ của các mẫu thực vật nghiên cứu được thu hái tại Lâm Đồng. Tên khoa học được định danh bởi tiến sỹ Nông Văn Duy (Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên) và tiêu bản được lưu giữ tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên với các số hiệu tiêu bản tương ứng ở bảng 1.

Hóa chất: môi trường nuôi cấy là Columbia agar (OXOID) có bổ sung 10% máu cừu, túi Genbag tạo môi trường vi hiếu khí

*Tác giả liên hệ: Email: phannhahoa87@gmail.com

Inhibitory effects on *Helicobacter pylori* of methanol extracts from plants collected in Lam Dong province

Nha Hoa Phan^{1*}, Bao Yen Pham²

¹Taynguyen Institute for Scientific Research,
Vietnam Academy of Science and Technology

²The Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology,
VNU University of Science

Received 28 October 2021; accepted 30 November 2021

Abstract:

World Health Organization has recently categorised *H. pylori* infection as a class I gastric carcinogen. Many medicinal plants have traditionally been used for gastrointestinal problems. This study aims to evaluate the inhibitory effect on *H. pylori* activity of plant extracts collected in Lam Dong province. The broth microdilution method was used *in vitro*. The research results have identified 10 extracts that can inhibit *H. pylori* at a concentration of 100 mg/ml. In which there were five samples of complete inhibition: *Mahonia nepalensis* DC.ex Dipple, *Derris malaccensis* Prain, *Desmodium laxiflorum* DC, *Hedyostics capitellata* var. *pubescens* Kurz, and *Aralia hiepiiana* J. Wen & Lowr. Five anti- *H. pylori* samples with the antibacterial diameter (mm) of a zone of inhibition 6-7 mm: *Mitrephora thorelii* Pierre, *Embelia ribes* Burn, *Maclura fruticosa* (Kurz), *Impatiens lanbianensis* Tardieu, and *Prunus javanica* (Teijsm & Binn.) Miq. The results have never been published before. They are the basis to expand the evaluation of anti- *H. pylori* activity of other plants to the search for species with potential for use in the treatment of *H. pylori* in Vietnam.

Keywords: *H. pylori*, inhibitory effects, medicinal plants extracts.

Classification number: 3.4

(bioMérieux), Amocillin (đối chứng dương), DMSO (đối chứng âm), methanol, eppendorf có BHI (Brain heart infusion của Difco, East Molesey, UK) và 10% glycerol dùng để bảo quản chủng giống, hóa chất nhuộm Gram, hydrogen peroxyde (H_2O_2) 3%, phenylenediamine dihydrochloride 1%, băng nhựa Pylori-test.

Phương pháp nghiên cứu

Phân lập chủng vi khuẩn và điều kiện nuôi cấy: kỹ thuật nuôi cấy *H. pylori* được tiến hành theo quy trình của Trung và cs (2018) [6].

Mẫu sinh thiết được nhuộm Giemsa xác định sự có mặt của vi khuẩn *H. pylori*. Mẫu dương tính được nghiền nát và cấy vào môi trường OXOID có bổ sung 10% máu cừu và kháng sinh chọn lọc cho phân lập *H. pylori*. Các đĩa thạch được ủ ở 37°C trong điều

kiện vi hiếu khí tạo bởi túi bioMérieux. Đọc kết quả sau 5-7 ngày. Tiến hành xác định vi khuẩn *H. pylori* bằng các thử nghiệm như: nhuộm gram, khả năng sinh các enzym urease, catalase và oxidase.

Phương pháp tạo cao chiết MeOH: từ các mẫu thực vật thu được, tạo ra cao chiết tổng MeOH theo quy trình sau: các mẫu thực vật được rửa sạch, sấy khô ở 50°C và xay nhỏ thành bột. Bột khô của mỗi mẫu thực vật (25 g) được ngâm chiết 3 lần với MeOH (100 ml) trên thiết bị chiết siêu âm (Ultrasonic 2010, 950 W) ở nhiệt độ 40-50°C, thời gian chiết mỗi lần tối thiểu 30 phút. Dịch chiết của 3 lần chiết được lọc qua giấy lọc (Whatman, d=25 mm, No 1) gộp lại và tiến hành cất loại dung môi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ dưới 50°C thu được cao chiết tổng MeOH. Cân và tính lượng cao chiết phần trăm hiệu suất. Bảo quản mẫu trong các lọ đựng cao chiết (theo tiêu chuẩn bảo quản mẫu) và đặt trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C cho đến khi thử hoạt tính.

Sàng lọc khả năng ức chế *H. pylori* của các cao chiết: việc sàng lọc khả năng ức chế *H. pylori* của các cao chiết được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch [14]. Theo đó, hoạt tính đối kháng vi sinh vật kiểm định được đánh giá bằng cách đo đường kính vòng ức chế vi sinh vật (DK) theo công thức:

$$DK (mm) = D - d$$

với D là đường kính vòng vô khuẩn và d là đường kính khoan giấy.

Vi khuẩn *H. pylori* được chuẩn bị có độ đục chuẩn McFarlands 2 ($OD_{625} = 0,451$, khoảng 6×10^8 tế bào), sau đó cấy dịch khuẩn lên các đĩa môi trường Columbia agar có bổ sung 10% máu cừu (100 µl/đĩa). Các mẫu cao được cân và hoà tan trong DMSO để thu được dung dịch có nồng độ là 100 mg/ml. Trước khi thử hoạt tính, 5 µl dịch chiết (nồng độ 100 mg/ml) được nhỏ lên trên khoan giấy thấm đã khử trùng (đường kính 5 mm), để khô và bảo quản ở 4°C. Mẫu đối chứng dương là khoan giấy thấm 5 µl kháng sinh amoxicillin (20 mg/ml), đối chứng âm là khoan giấy thấm 5 µl DMSO 100%. Sau khi cấy vi khuẩn, các khoan giấy được đặt lên bề mặt thạch và nuôi ở điều kiện vi hiếu khí, 37°C. Thử nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần.

Đọc kết quả: quan sát thời gian xuất hiện vòng kháng khuẩn và đo đường kính vòng kháng khuẩn (nếu có) sau 7 ngày ủ đĩa.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel, so sánh Anova 1 yếu tố với phép thử Duncan ($\alpha=0,05$) trên phần mềm SPSS 16.0.

Kết quả

Phân lập và bảo quản chủng *H. pylori*

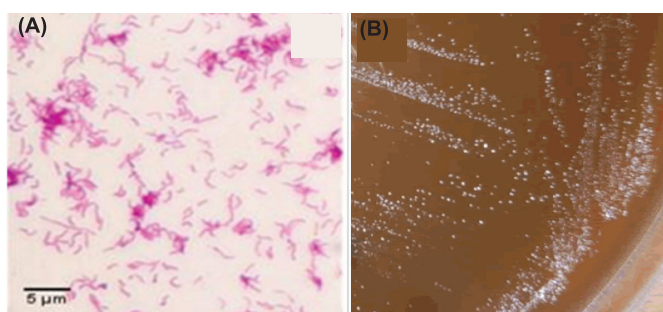
Đã tiến hành phân lập *H. pylori* từ mẫu sinh thiết dạ dày, kết quả chủng *H. pylori* được phân lập lâm sàng có các đặc điểm:

Hình thái: khuẩn lạc nhỏ, tròn khoảng 1 mm như đầu đinh ghim, màu xám nhạt, trong suốt, lồi lên khỏi mặt thạch.

Nhuộm gram: dưới kính hiển vi quang học với vật kính đầu 100x, sẽ nhìn thấy các vi khuẩn nhỏ, có hình cung hoặc cánh chim hải âu, bắt màu hồng của vi khuẩn Gram âm, đường kính 0,3-1 μm , dài 1,5-5 μm với 4-6 lông ở mỗi đầu.

Khả năng sinh các enzym urease, catalase, oxidase: thử nghiệm urease (+), oxydase (+), catalase (+).

Bảo quản: chủng *H. pylori* được bảo quản trong môi trường Brain Heart Infusion (BHI) có bổ sung 5% máu cừu và 10% glycerol ở nhiệt độ 4°C để dùng cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Khuẩn lạc và tế bào vi khuẩn *H. pylori*. (A) Tế bào vi khuẩn; (B) Khuẩn lạc.

Lượng cao chiết tổng số từ các mẫu thực vật

Với 10 mẫu thực vật dùng trong nghiên cứu, sau khi chiết bằng dung môi MeOH thu được 10 mẫu cao chiết khác nhau. Sau khi làm khô, tổng lượng cao khô methanol của các mẫu nằm trong khoảng 2,52-5,76 g (tương đương 10,08-23,04%). Kết quả tạo cao chiết được chỉ ra ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả hàm lượng cao chiết thu được từ 10 mẫu thực vật.

STT	Số hiệu tiêu bản	Tên khoa học	Tên địa phương	Họ	Bộ phận dùng	Cao MeOH (%)
1	TN3/044	<i>Mitrephora thorelii</i>	Mạo dài	Annonaceae		23,04
2	TN3/073	<i>Embelia ribes</i>	Chua ngút	Myrsinaceae		10,08
3	TN3/145	<i>Mahonia nepalensis</i>	Hoàng liên gai	Berberidaceae		18,54
4	TN3/191	<i>Derris malaccensis</i>	Cóc kèn Mã Lai	Fabaceae		15,66
5	TN3/355	<i>Desmodium laxiflorum</i>	Trăng quả trái	Fabaceae		
6	TN3/435	<i>Maclura fruticosa</i>	Vàng lò bụi	Moraceae	Lá và cành nhỏ	11,05
7	TN3/658	<i>Hedyotis capitellata subpubescens</i>	An điền mềm	Rubiaceae		13,21
8	TN3/129	<i>Aralia hiepiana</i>	Aralia	Araliaceae		16,84
9	TN3/331	<i>Impatiens lanbianensis</i>	Móng tai Langbiang	Balsamiaceae		20,29
10	TN3/928	<i>Prunus javanica</i>	Hoa anh đào	Rosaceae		12,95

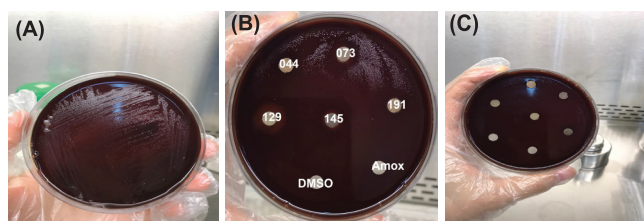
Khả năng ức chế *H. pylori* của một số cao chiết

Kết quả đánh giá khả năng ức chế *H. pylori* được thể hiện ở bảng 2 và hình 2.

Bảng 2. Đường kính vòng vô khuẩn của các mẫu cao chiết.

Số hiệu tiêu bản	Cao chiết	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	$\bar{X} \pm SD$
TN3/044	Mạo dài	7	7	7	7 $\pm$ 0
TN3/073	Chua ngút	7	6	7	6,7 $\pm$ 0,47
TN3/145	Hoàng liên gai	x	x	x	x
TN3/191	Cóc kèn Mã Lai	x	x	x	x
TN3/355	Trăng quả trái	x	x	x	x
TN3/435	Vàng lò bụi	7	7	6	6,7 $\pm$ 0,47
TN3/658	An điền mềm (dạ cảm)	x	x	x	x
TN3/129	Aralia	x	x	x	x
TN3/331	Móng tai Langbiang	6	6	7	6,3 $\pm$ 0,58
TN3/928	Hoa anh đào	6	6	6	6 $\pm$ 0
DMSO	Dimethyl sulfoxit (đối chứng âm)	0	0	0	0
Amox	Amoxicilin (đối chứng dương)	8	8	8	8

x: không xác định được vòng kháng khuẩn do vi khuẩn mọc thưa, yếu hoặc không mọc; X: giá trị trung bình của những lần lặp lại.



Hình 2. Vi khuẩn trên đĩa không đặt mẫu (A) và có đặt mẫu (B, C).

Kết quả cho thấy (sau 3 lần lặp lại), trong cùng điều kiện nuôi (vi hiếu khí, nhiệt độ 37°C) và cùng lượng giống [100 μl dịch khuẩn/đĩa với McFarland 2 ($OD_{625} = 0,451$, khoảng 6×10^8 tế bào)], sau khoảng 5 ngày đặt mẫu thấy xuất hiện vòng vô khuẩn và sau 7 ngày vòng vô khuẩn thể hiện rõ (với những mẫu có đường kính vòng vô khuẩn). Sau 7 ngày nuôi cấy đối với những đĩa không đặt mẫu thì vi khuẩn mọc dày, đều (hình 2A). Tuy nhiên, ở những đĩa có đặt mẫu thì hầu hết vi khuẩn đều mọc rất thưa, yếu, thậm chí không mọc (hình 2B và C). Trong khi đó, đối chứng dương 5 μl Amoxicilin (20 mg/ml) cho đường kính vòng kháng khuẩn là 8 mm, với đối chứng âm DMSO (100%) vi khuẩn vẫn mọc xung quanh đĩa giấy và không xuất hiện vòng vô khuẩn. Vì vậy, trong điều kiện thí nghiệm này 10 mẫu cao chiết thử nghiệm đều có khả năng ức chế sự sinh trưởng của *H. pylori* với mỗi dịch chiết có nồng độ 100 mg/ml trên 1 khoanh giấy thấm đã khử trùng (đường kính 5 mm). Sự ức chế vi khuẩn *H. pylori* của các mẫu khác nhau có khác nhau. Ở đây có thể chia làm 2 nhóm: nhóm 1, gồm một số mẫu vi khuẩn mọc yếu nhưng vẫn cho đường kính vòng kháng khuẩn như: Mạo dài, Chua ngút, Vàng lò bụi, Móng tai Langbiang, Hoa anh đào với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình 6-7 mm. Nhóm 2, gồm những mẫu mà vi khuẩn mọc rất yếu, thậm chí không mọc và không quan sát được vòng kháng khuẩn như: Hoàng liên gai, Cóc kèn Mã Lai, Trăng quả trái, An điền mềm, Aralia. Sự khác nhau này có thể do mỗi một cây hoặc một nhóm cây có những hợp chất kháng *H. pylori* khác nhau [2].

So sánh công bố trước đây trên một số thảo dược khác của Việt Nam như Đỗ Thị Thanh Trung và cs (2018) [6] khi đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn *H. pylori* của 30 dịch chiết thảo dược Việt Nam các tác giả sử dụng nồng độ cao chiết là 200 mg/ml thì đường kính vòng kháng khuẩn là từ 12 đến 42 mm. Tuy nhiên, với 10 mẫu mà chúng tôi thử nghiệm tại nồng độ 100 mg/ml đều cho kết quả ức chế sự phát triển của *H. pylori*, đặc biệt là cao chiết từ Hoàng liên gai, Cóc kèn Mã Lai, Tràng quả trái, An điền mềm, Aralia gây ức chế hoàn toàn. Với những kết quả ban đầu như vậy, chúng tôi hy vọng Hoàng liên gai, Cóc kèn Mã Lai, Tràng quả trái, An điền mềm, Aralia là những mẫu có hoạt tính ức chế sự phát triển của *H. pylori* mạnh hơn những mẫu công bố trước đây của Đỗ Thị Thanh Trung và cs [6].

Trong 10 mẫu thực vật mà chúng tôi nghiên cứu có 2 mẫu đã được nghiên cứu về thành phần hóa học, đó là TN3/044 *Mitrephora thorelii* và TN3/129 *Aralia hiepihana*. Thuần và cs (2014) [15] đã phân lập được 4 hợp chất flavonoid từ lá cây Mạo đài là: astragalin, juglanin, quercetin và quercitrin. Từ các dịch chiết phân đoạn của lá cây *Aralia hiepihana*, bằng các phương pháp sắc ký bước đầu đã phân lập được 7 hợp chất sạch: *n*-nonacosano, β -sistosterol, kaempferol, quercetin, apigenin 7-O- β -glucoside, kaempferitrin, kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-7-O- α -L-rhamnopyranoside. Các hợp chất trên lần đầu tiên được phân lập từ loài *Aralia hiepihana* [16]. Dựa trên kết quả điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên dược liệu thực vật tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học, các nhà khoa học đã phát triển các loài dược liệu có giá trị cao [13]. Từ 1003 cao chiết tổng MeOH của 1003 loài thực vật có 202 mẫu đã được thử hoạt tính kháng 4 loại vi khuẩn kiểm định (*Escherichia coli* (ATTC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 25922), *Bacillus subtilis* (ATTC 11774), *Staphylococcus aureus* (ATTC 11632)), hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào ung thư. 10 mẫu mà chúng tôi sử dụng có TN3/044 Mạo đài có khả năng kháng *Bacillus subtilis* (ATTC 11774) ở nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) 200 μ g/ml và TN3/355 Tràng quả trái có khả năng kháng *Staphylococcus aureus* ở MIC là 200 μ g/ml. Những mẫu còn lại chưa được thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định. Về hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro* có TN3/435 Vàng lồ bụi dương tính với dòng tế bào RD (Human rhabdomyosarcoma - ung thư mô liên kết) và TN3/331 Móng tai Langbiang dương tính với 2 dòng tế bào RD và Hep-G2 (Human hepatocellular carcinoma - ung thư gan). Về hoạt tính chống oxy hóa, TN3/044 có hoạt tính chống oxy hóa mạnh (SC_{50} 167,3 μ g/ml), TN3/331 (SC_{50} 139,5 μ g/ml) và TN3/355 có khả năng bắt gốc tự do yếu.

Với nguồn dược liệu phong phú này trong thời gian tới sẽ mở rộng quy mô sàng lọc hoạt tính sinh học để phát hiện nhiều loài dược liệu có tiềm năng. Đặc biệt, cần có những nghiên cứu sâu hơn để xác định được mẫu thực vật nào có tiềm năng nhất trong việc ức chế *H. pylori* cũng như chiết tách và phân lập các hợp chất có tiềm năng cho thử nghiệm tác dụng ức chế *H. pylori*.

Kết luận

Nội dung chính của công trình nghiên cứu là đánh giá khả năng ức chế *H. pylori* của một số mẫu cao chiết methanol thực vật thu được tại Lâm Đồng. Kết quả nghiên cứu đã xác định 10 mẫu cao chiết có khả năng ức chế *H. pylori* với nồng độ 100 mg/ml, trong đó 5 mẫu ức chế hoàn toàn là Hoàng liên gai, Cóc kèn Mã Lai, Tràng quả trái, An điền mềm, Aralia và 5 mẫu ức chế với đường kính vòng vô khuẩn đạt 6-7 mm là Mạo đài, Chua ngút, Vàng lồ bụi, Móng tai Langbiang, Hoa anh đào. Hoàng liên gai, Cóc kèn Mã Lai, Tràng quả trái, An điền mềm, Aralia nên được lựa chọn để thử hoạt tính ở các nồng độ thấp hơn cũng như chiết tách và phân lập các hợp chất có tiềm năng cho thử nghiệm tác dụng ức chế *H. pylori*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Owen (1995), "Bacteriology of *Helicobacter pylori*", *Baillieres Clin. Gastroenterol*, **9**(3), pp.415-446.
- [2] Y. Wang (2014), "Medicinal plants and *H. pylori*-induced diseases", *World J. Gastroenterol.*, **20**(30), pp.10368-10382.
- [3] P. Kosikowska, L. Berlicki (2011), "Urease inhibitors as potential drugs for gastritis and urinary tract infections: a patent review", *Expert Opin. Ther. Pat.*, **21**, pp.945-957.
- [4] H. Mobley, et al. (1991), "Helicobacter pylori urease: properties and role in pathogenesis", *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.*, **187**, pp.39-46.
- [5] D. Forman (1996), "Helicobacter pylori and gastric cancer", *Scand. J. Gastroenterol.*, **215**, pp.48-51.
- [6] Đỗ Thị Thanh Trung và cs (2018), "Đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* của một số dịch chiết thảo dược Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*, **60**(7), tr.23-27.
- [7] M. Balunas, A. Kinghorn (2005), "Drug discovery from medicinal plants", *Life Sci.*, **78**, pp.431-441.
- [8] D. Soejarto, et al. (2012), "An ethnobotanical survey of medicinal plants of Laos toward the discovery of bioactive compounds as potential candidates for pharmaceutical development", *Pharm. Biol.*, **50**(1), pp.42-60.
- [9] L. Cellini, et al. (1996), "Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*)", *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **13**(4), pp.277-279.
- [10] S. Maliheh, et al. (2015), "Medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections", *Pharm. Biol.*, **53**(7), pp.939-960.
- [11] S. George, et al. (2003), "In vitro anti - *Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines", *Journal of Ethnopharmacology*, **88**, pp.175-179.
- [12] E. Bae, et al. (1998), "Anti - *Helicobacter pylori* activity of herbal medicines", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **21**(9), pp.990-992.
- [13] Nguyễn Hữu Toàn Phan (2016), *Báo cáo kết quả đề tài Điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên dược liệu thực vật tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học nhằm phát triển các loài dược liệu có giá trị cao (mã số: TN3/T14)*.
- [14] C. Njume, et al. (2011), "In-vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of acetone, ethanol and methanol extracts of the stem bark of *Combretum molle* (Combretaceae)", *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(14), pp.3210-3216.
- [15] Nguyễn Thị Diệu Thuần và cs (2014), "Các hợp chất flavonoid từ lá cây Mạo đài *Mitrephora thorelii* Pierre (Annonaceae)", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, **52**(5A), tr.358-363.
- [16] Nguyen Thi Dieu Thuan, et al. (2018), "Flavonoids from the leaves of *Aralia hiepihana*", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **56**(4A), pp.259-265.