

KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID, HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG VI SINH VẬT CỦA LÁ CÂY LỨC LAN *LIPPIA NODIFLORA* (HỌ CỎ ROİ NGỰA - VERBENACEAE)

INVESTIGATION OF POLYPHENOL, FLAVONOID CONTENT, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *LIPPIA NODIFLORA* LEAVES (VERBENACEAE)

Cao Thị Huệ^{1,*}, Nguyễn Thị Diễm², Lục Quang Tấn³, Phạm Ngọc Quỳnh⁴,
Trần Thị Phương Liên⁴, Trần Thị Hồng⁵, Hà Thị Dung⁶

DOI: <http://doi.org/10.57001/huih5804.2025.081>

TÓM TẮT

Cây lúc lan (*Lippia nodiflora*) là một loài thực vật thuộc họ Cỏ roi ngựa, được sử dụng nhiều trong các bài thuốc dân gian nhằm tăng sức đề kháng, giảm các triệu chứng dị ứng da, mụn nhọt. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tạo các cao chiết thô từ cây lúc lan với các dung môi có độ phân cực tăng dần (*n*-hexan, ethyl acetate và methanol); khảo sát hàm lượng flavonoid và polyphenol tổng số cũng như sàng lọc hoạt tính kháng oxy hóa và kháng vi sinh vật kiểm định của chúng. Hàm lượng flavonoid của cao methanol, ethyl acetate và *n*-hexan đạt 96,11; 126,15 và 77,98mg GAE/g, trong khi hàm lượng polyphenol tổng số có giá trị lần lượt là 69,26, 37,68 và 27,09mg QE/g. Giá trị EC₅₀ của năng lực khử của cao chiết methanol và ethyl acetate là 93,20 và 1514μg/mL. Khả năng quét gốc tự do H₂O₂ của ba cao chiết này có giá trị lần lượt là 163,04; 67,56 và 83,69μg/mL. Cả ba cao chiết thể hiện khả năng kháng khuẩn *Bacillus cereus* ATCC 11778. Ngoài ra, cao *n*-hexan có khả năng ức chế vi khuẩn *Pseudomonas putida* 3326K1.

Từ khóa: Cây lúc lan, polyphenol, flavonoid, kháng oxy hóa, kháng vi sinh vật kiểm định.

ABSTRACT

The species *Lippia nodiflora*, commonly known as the frog fruit, is a plant species belonging to the Verbenaceae family. It has long been used in traditional medicine to enhance immunity, alleviate allergic skin reactions, as well as treat acne. Three crude extracts from *Lippia nodiflora* were prepared using solvents with increasing polarity (*n*-hexan, ethyl acetate, and methanol). The total flavonoid and polyphenol content as well as the antioxidant and antimicrobial activities of the three extracts were investigated in this research. The flavonoid content of methanol, ethyl acetate, and *n*-hexan extracts were found to be 96.11, 126.15, and 77.98mg GAE/g, respectively. The total polyphenol content were 69.26, 37.68, and 27.09mg QE/g, respectively. The EC₅₀ values for the reducing power of methanol and ethyl acetate extracts were 33.13 and 1514μg/mL, respectively. Additionally, the EC₅₀ values for H₂O₂ free radical scavenging ability of these extracts were determined to be 163.04, 67.56, and 83.69 μg/mL, respectively. All three extracts exhibited antimicrobial activity against *Bacillus cereus* ATCC 11778. Furthermore, the *n*-hexan extract pointed out the inhibitory effects on *Pseudomonas putida* 3326K1 bacteria.

Keywords: *Lippia nodiflora*, polyphenol, flavonoid, antioxidant activity, antimicrobial activity.

¹Trường Đại học Thủy Lợi

²Viện Nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Phân hiệu Đại học Thái Nguyên tại Hà Giang

⁴Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

⁵Viện nghiên cứu khoa học Miền Trung, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁶Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: caohue@tlu.edu.vn

Ngày nhận bài: 15/7/2024

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 26/02/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/3/2025

1. GIỚI THIỆU

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới và nhiệt đới gió mùa, thực vật phát triển phong phú với khoảng 12000 loài, tạo ra nguồn nguyên liệu dồi dào cho đời sống con người và là nguyên liệu để thực hiện các nghiên cứu khoa học tạo ra sản phẩm có giá trị [1].

Cây lúc lác có tên khoa học là *Lippia nodiflora*, thuộc họ Cỏ roi ngựa *Verbenaceae*. Trên thế giới, họ *Verbenaceae* có khoảng 100 chi và 2600 loài, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới, ít có ở vùng ôn đới. Ở Việt Nam có 26 chi và trên 130 loài thuộc họ này. Lúc lác là loại cây thân thảo, mọc hoang dã, mọc bờ lác, phát triển nhanh [2], phân bố ở nhiều vùng lãnh thổ và quốc gia trên thế giới như Châu Á, Úc, Trung - Nam Mỹ, Địa Trung Hải và Châu Phi [3]. Trên thế giới có một số nghiên cứu về thành phần hóa học, hoạt tính sinh học và tác dụng dược lý của cây lúc lác. Trong y học cổ truyền, cây được dùng để điều trị nhiều loại bệnh như hen suyễn, viêm phế quản, đau khớp gối, bệnh trĩ nội, bệnh tim, viêm gan và sốt [4]. Một số cận chiết từ cây lúc lác được chứng minh có khả năng gây độc tế bào đối với một số dòng tế bào ung thư, kháng viêm, kháng khuẩn, bảo vệ gan,... Phần thân cây được dùng như một thành phần phổ biến của trà thảo dược để hỗ trợ điều trị chứng viêm, rối loạn kinh nguyệt và bệnh truyền nhiễm [4, 5]. Ở một số quốc gia, lúc lác còn được dùng trong cảnh quan và thức ăn cho gia súc [6]. Khi thực hiện khảo sát các chất và thành phần hóa học có trong cây lúc lác cho thấy sự xuất hiện của các hợp chất thuộc nhóm alkaloid, glycoside, tanin, flavonoid, saponin và terpenoid [7]. Ở nước ta, cây lúc lác là một trong những loài thực vật từ lâu đã có mặt trong các bài thuốc dân gian, loài cây này phân bố rộng rãi từ Bắc vào Nam và được dùng làm thuốc ở dạng tươi hay khô đều được. Theo tác giả Võ Văn Chi [8], lúc lác có vị đắng và có nhiều công dụng như: thanh nhiệt, điều trị viêm hạch hạnh nhân cấp tính; giúp lợi tiểu, tiêu thũng; tiêu viêm, điều trị viêm nướu có mủ; giúp giảm đau, điều trị nhức răng; giúp thải độc, làm mát máu,... Cây lúc lác còn được dùng điều trị nhiều bệnh ngoài da như mụn nhọt, bỏng da, zona, bệnh chàm mãn tính, viêm mủ da... bằng cách giã nát toàn cây tươi rồi thoa, đắp lên.

Những nghiên cứu cho thấy tác dụng dược lý và thành phần hóa học của cây lúc lác. Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có công trình công bố nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài cây này. Để góp phần tìm hiểu thêm giá trị mà cây lúc lác đem lại và khẳng định cơ sở khoa học của các tác dụng của cây lúc lác, nhóm nghiên cứu tiến hành sàng lọc thành phần hóa học, đánh giá hàm

lượng polyphenol và flavonoid tổng số, khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và kháng vi sinh vật của lá cây lúc lác *Lippia nodiflora*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Cây lúc lác (*Lippia nodiflora*) được thu hái tại bờ sông Hồng thuộc thôn Sâm Hồng, xã Thắng Lợi, huyện Văn Giang, tỉnh Hưng Yên. Mẫu được thu vào ngày tháng 6 năm 2022. Mẫu cây được định danh khoa học bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu cây lúc lác sau khi thu về được làm sạch sơ bộ, rửa sạch đất cát bám trên cây, sau đó phơi khô. Tiêu bản được kí hiệu là LN-HY-BioTLU2022, lưu tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Thủy lợi (175 Tây Sơn, Đống Đa, Hà Nội). Mẫu khô được nghiền nhỏ, bảo quản trong túi nilon có khóa zip, bảo quản tại vị trí khô ráo, tránh ánh nắng trực tiếp cho đến khi tiến hành thí nghiệm.

Năm chủng vi sinh vật kiểm định gồm: *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 11105, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas putida* 3326K1 được cung cấp bởi Viện Công nghệ Thực phẩm.

Hóa chất

Các hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm có nguồn gốc xuất xứ như sau: các loại dung môi ethanol, methanol, ethyl acetate, n-hexan (Đức Giang - Việt Nam); $K_3Fe(CN)_6$, CCl_3COOH , $FeCl_3$, $AlCl_3$ (Xilong - Trung Quốc); Folin - Ciocalteu (Sigma Aldrich - Mỹ), acid gallic (Sigma Aldrich - Mỹ), quercetin (Sigma Aldrich - Mỹ), acid ascorbic (Sigma Aldrich - Mỹ).

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tạo cao chiết

Nhóm nghiên cứu tiến hành tạo các cao chiết với các dung môi khác nhau theo phương pháp mô tả bởi Cao và cộng sự [9]. Theo đó, 500g nguyên liệu lá lúc lác được nghiền nhỏ thành bột mịn, thực hiện trích ly lần lượt với các dung môi theo độ phân cực tăng dần là n-hexan, ethyl acetate, methanol. Quá trình chiết với mỗi dung môi được thực hiện 3 lần, trong đó lượng dung môi mỗi lần chiết bằng khoảng 3 lần thể tích mẫu (v/w). Cụ thể, bã của cao chiết n-hexan được tiếp tục sử dụng để chiết với dung môi ethyl acetate, bã của cao chiết ethyl acetate được sử dụng để chiết với dung môi methanol. Quá trình chiết được thực hiện dưới sự hỗ trợ của sóng siêu âm, mỗi lần 45 phút ở nhiệt độ 50°C (bể siêu âm model Elma-S100H, Germany). Sau đó, dịch chiết được thu qua giấy lọc

Whatman. Dịch chiết của 3 lần được gom lại, cô quay để loại dung môi bằng máy cất quay chân không và thu được ba cao chiết: *n*-hexan, ethyl acetate và methanol, được kí hiệu lần lượt là: H-FN, E-FN và M-FN.

Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) của các cao chiết từ cây lúc lan được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Cao và cộng sự [10]. Hàm lượng flavonoid tổng số của các cao chiết được thực hiện theo phương pháp tạo màu trong môi trường kiềm được mô tả bởi Chang và cộng sự [11]. Trong đó, acid gallic và quercetin được dùng làm chất chuẩn để xây dựng đồ thị tuyến tính sự phụ thuộc của mật độ quang vào nồng độ của polyphenol và flavonoid.

Phương pháp đánh giá năng lực khử của cao chiết

Năng lực khử (RP) được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Ferreira và cộng sự [12]. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5mL cao chiết pha trong các dung môi phù hợp ở dải nồng độ từ 0 - 500µg/mL, 0,5mL đệm phosphate (0,2M, pH 6,6) và 0,5mL K₃Fe(CN)₆ 1%. Sau đó hỗn hợp phản ứng được ủ ấm ở 50°C trong 20 phút bằng bể ổn nhiệt (Mettmert WNB22, Đức), thêm 0,5mL TCA 10% để kết thúc phản ứng rồi lắc đều và ly tâm 3000 vòng/phút trong thời gian 10 phút bằng máy ly tâm (Centrifuge 5424 R, Eppendorf, Đức). Tiếp theo, nhẹ nhàng rút 0,5mL phần pha lỏng, bổ sung 0,5mL nước cất và 0,1mL FeCl₃ 0,1% rồi lắc đều, sau đó tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 700nm bằng máy đo quang (BioSpectrometer Basic, Eppendorf, Đức). Chất đối chứng dương sử dụng là ascorbic acid. Hiệu quả kháng oxy hóa của các cao chiết ở các nồng độ khác nhau được so sánh với chất chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ mà tại đó chất chuẩn hay cao chiết có giá trị OD là 0,5 (OD_{0,5}).

Phương pháp đánh giá khả năng khử gốc peroxide của cao chiết

Khả năng khử gốc peroxide được tiến hành theo mô tả của Rahate và cộng sự [13] và được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ ức chế } \text{H}_2\text{O}_2 = \frac{(A_0 - A) \times 100}{A_0}$$

Trong đó, A₀: Độ hấp thụ của mẫu trắng (không chứa H₂O₂), A: Độ hấp thụ của mẫu.

Tiến hành xây dựng phương trình đường chuẩn với phần trăm ức chế H₂O₂ thu được ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, giá trị EC₅₀ được tính là nồng độ mẫu hay vitamin C mà tại đó ức chế 50% H₂O₂.

Xác định hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của cao chiết

Kiểm tra hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh kiểm định (gồm 04 chủng: *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 11105, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas putida* 3326K1) và nấm men gây bệnh kiểm định (*Candida albicans* ATCC 10231) của cao chiết được thực hiện theo mô tả trong nghiên cứu của Trần Chí Linh và cộng sự [14] có một số cải biến nhỏ phù hợp với điều kiện thí nghiệm như sau: 100µL dịch nuôi cấy vi khuẩn/nấm men gây bệnh kiểm định (mật độ tế bào 10⁵ CFU/mL) được trang lên bề mặt môi trường LB (đối với vi khuẩn) và Hansen (đối với nấm men). Tiến hành đục lỗ tạo giếng thạch và nhỏ vào mỗi giếng thạch 100µL cao chiết ở các nồng độ khác nhau. Đường kính vòng kháng khuẩn/kháng nấm men được đo bằng thước đo đơn vị mm sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 37°C (đối với vi khuẩn) và 30°C (đối với nấm men) và được tính theo công thức sau:

$$DKVK = D - d \text{ (mm)}$$

Trong đó: D - Đường kính vòng kháng khuẩn/ kháng nấm men; d - Đường kính thời thạch.

Xử lý số liệu và phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm và phép đo trong đề tài đều được thực hiện 3 lần. Số liệu được xử lý và phân tích sử dụng phần mềm Graphpad. Số liệu trong bài được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± phương sai (SD).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tạo các cao chiết phân đoạn từ cây lúc lan

Kết quả nghiên cứu cho thấy, từ 500g mẫu khô của lá cây lúc lan thu được 25g cao chiết *n*-hexan, 15,7g cao chiết ethyl acetate và 20,1g cao chiết methanol. Hiệu suất thu nhận các cao chiết tính theo phần trăm đối với cao chiết *n*-hexan, ethyl acetate và methanol lần lượt là 5%; 3,14% và 4,02%. Như vậy có thể thấy, các chất phân cực thấp, các chất phân cực trung bình và các chất phân cực cao trong cây lúc lan có tỉ lệ khá đồng đều.

3.2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số trong các cao chiết từ cây lúc lan

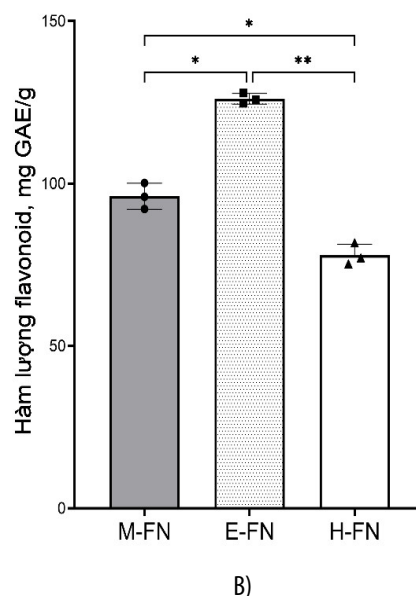
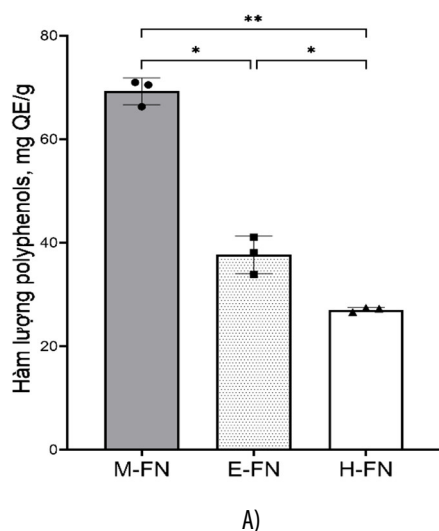
Hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC) với chất chuẩn tương ứng là quercetin (thực nghiệm thu được phương trình tuyến tính $y = 0,0149x - 0,0006$, $R^2 = 0,9952$) và acid gallic (phương trình tuyến tính $y = 0,0065x - 0,0063$, $R^2 = 0,9952$). Trên cơ sở các đường chuẩn này tính được hàm lượng TPC và TFC. Kết quả được trình bày ở hình 1.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng flavonoid có trong cao chiết methanol, ethyl acetate và *n*-hexan lần

lượng là 96,11; 126,16 và 77,97mg GAE/g. Như vậy chúng ta có thể thấy, cao chiết phân đoạn ethyl acetate có hàm lượng polyphenol cao hơn hẳn so với cao chiết methanol và cao chiết *n*-hexan.

Các hợp chất polyphenol là những hợp chất có độ phân cực trung bình và độ phân cực khá, vì vậy tập trung ở các phân đoạn có độ phân cực như: ethyl acetate và methanol. Như vậy, để tạo phân đoạn giàu polyphenol có thể chiết theo cách: loại bỏ phân đoạn phân cực thấp (chiết với *n*-hexan), sau đó chiết với các dung môi có độ phân cực cao hơn (ethyl acetate và methanol). Hàm lượng flavonoid có trong cao chiết methanol, ethyl acetate và *n*-hexan lần lượt là 69,26; 37,67 và 27,04mg GAE/g. Kết quả này cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Sudha và cộng sự đã được công bố trước đó, cao chiết methanol của các bộ phận trên mặt đất của cây lúc lác có hàm lượng flavonoid tổng số là 60,88mg GAE/g và flavonol 27,46mg GAE/g [15]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng polyphenol có trong cao chiết methanol của các bộ phận trên mặt đất của cây lúc lác có thể đạt mức 98,31 QE mg/g. Thành phần hóa học của các chất tự nhiên phụ thuộc vào: giống cây, điều kiện địa lý, thổ nhưỡng cũng như điều kiện chiết xuất.

Thông thường, các hợp chất polyphenol và flavonoid là các nhóm chất phân cực trung bình và phân cực cao, sẽ tập trung trong các phân đoạn ethyl acetate và methanol. Ở nghiên cứu này, trong phân đoạn *n*-hexan cũng có chứa hàm lượng đáng kể của 2 lớp chất này (thấp hơn so với 2 cao chiết còn lại). Điều này có thể được giải thích bởi nguyên liệu và phương pháp chiết. Nguyên liệu được nghiền nhỏ mịn, đồng thời quá trình chiết được hỗ trợ bởi sóng siêu âm. Sự kết hợp của hai yếu tố này có thể là nguyên nhân dẫn đến sự chiết rút một số lớp chất ra khỏi vật liệu một cách dễ dàng hơn.

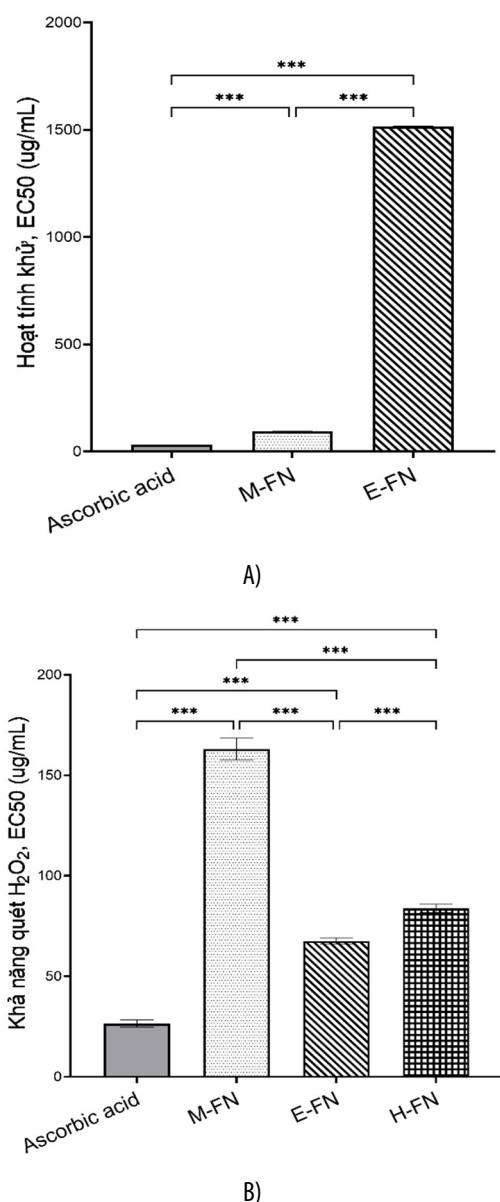


Hình 1. Hàm lượng flavonoid và polyphenol tổng số có trong các cao chiết từ cây lúc lác

(A - TPC, B - TFC; M-FN; E-FN, H-FN: các cao chiết methanol, ethyl acetate và *n*-hexan từ cây lúc lác; các kí hiệu: *, **, *** thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (Tukey's test, $p < 0,05$))

3.3. Kết quả đánh giá năng lực khử của các cao chiết từ cây lúc lác

Kết quả đánh giá năng lực khử cho thấy, tùy theo phương pháp và điều kiện phản ứng tiến hành khác nhau mà các hoạt chất từ cao chiết sẽ cho khả năng phản ứng khác nhau. Độ hấp thụ quang tại bước sóng 700nm tăng dần khi tăng nồng độ của cao chiết. Mật độ quang càng cao thì năng lực khử càng mạnh. Từ số liệu về sự phụ thuộc của mật độ quang vào nồng độ xây dựng được đường chuẩn và tính giá trị EC_{50} (hình 2A). Đối với phương pháp đánh giá này cho thấy, cao chiết *n*-hexan không thể hiện hoạt tính. Cao chiết ethyl acetate cũng thể hiện hoạt tính yếu với giá trị EC_{50} khoảng 1512 μ g/mL. Giá trị EC_{50} của cao chiết methanol của cây lúc lác là 93,20 μ g/mL, cao hơn đối chứng dương (ascorbic acid) khá nhiều. Tuy nhiên, đối với các phương pháp thử chống oxy hóa nói chung, và đặc biệt đối với phương pháp sàng lọc năng lực khử, giá trị $EC_{50} < 100\mu$ g/mL đã được coi là có hoạt tính. Đồng thời, giá trị EC_{50} của mẫu cao chiết methanol từ cây lúc lác này thấp hơn rất nhiều so với một số loại cao chiết khác được công bố như cây trắc bá diệp, một loài cây thuốc trong dân gian được dùng rất nhiều với nhiều hoạt tính sinh học được biết đến, đặc biệt là hoạt tính chống oxy hóa [16] nên có thể coi cây lúc lác là một cây có tiềm năng về hoạt tính chống oxy hóa.



Hình 2. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ cây lúc lán

A - Năng lực khử, B - Khả năng quét gốc tự do peroxide

(M-FN, E-FN, H-FN: các cao chiết methanol, ethyl acetate và n-hexan từ cây lúc lán; các kí hiệu: *, **, *** thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (Tukey's test, $p < 0,05$))

3.4. Hoạt tính chống oxy hóa quét gốc tự do H₂O₂ của cây lúc lán

Hoạt tính kháng oxy hóa của các mẫu cao chiết thử nghiệm được đánh giá qua khả năng ức chế gốc tự do hydrogen peroxide. Từ kết quả ở hình 2 cho thấy, cao chiết methanol không thể hiện khả năng quét gốc tự do H₂O₂ với giá trị EC₅₀ > 100 µg/mL, chỉ có cao chiết n-hexan và ethyl acetate (H-FN, E-FN) là thể hiện hoạt tính quét gốc tự do H₂O₂, trong đó cao chiết ethyl acetate mạnh gấp 1,23 lần so với cao chiết n-hexan với giá trị EC₅₀ tương

ứng là 67,56 và 83,69 µg/mL, cao hơn đối chứng dương là ascorbic acid 2,56 - 3,13 lần (tức là khả năng quét gốc tự do của hai cao chiết này nhỏ hơn so với vitamin C). Ở một số nghiên cứu chúng ta thấy, khả năng quét gốc tự do của các cao chiết có thể có liên quan tới hàm lượng flavonoid và polyphenol tổng số [17]. Trong trường hợp này, khả năng ức chế gốc tự do H₂O₂ của cao chiết ethyl acetate mạnh hơn so với cao chiết methanol và n-hexan có thể do lượng flavonoid cao hơn, đây là được coi là nhóm chất kháng oxy hóa mạnh [18]. Tuy nhiên, hàm lượng polyphenol của cao chiết methanol lại cao hơn hẳn so với hai cao chiết ethyl acetate và n-hexan, chứng tỏ sự có mặt của các chất cụ thể trong các cao chiết là nguyên nhân sâu xa gây ra những hoạt tính dược lý của cao chiết. Chính vì vậy, việc tìm kiếm các chất có trong các cao chiết và đánh giá hoạt tính sinh học của các chất này cần được nghiên cứu thêm.

3.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của cao chiết cây lúc lán

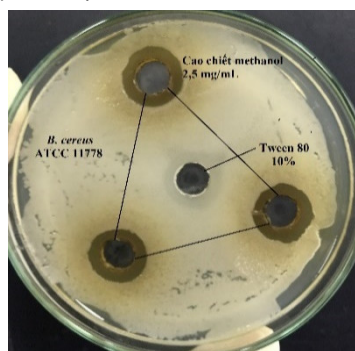
Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, với từng loại dung môi khác nhau thì hiệu suất chiết xuất cao chiết thảo dược sẽ khác nhau và hoạt chất thu được cũng khác nhau. Theo nghiên cứu của Turker và cộng sự [19], cao chiết thảo dược được chiết xuất bằng methanol và ethanol có hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với cao chiết n-hexan hoặc ethyl acetate [20, 21]. Trong nghiên cứu này, cao chiết methanol của cây lúc lán thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn so với cao chiết ethyl acetate và n-hexan. Cả 3 cao chiết của cây lúc lán đều không có hoạt tính ức chế ở nồng độ nhỏ hơn 1,5 mg/mL đối với 5 chủng vi sinh vật kiểm định. Ở các nồng độ cao hơn, trong 5 chủng thử nghiệm trên, cao chiết methanol và ethyl acetate chỉ thể hiện hoạt tính đối kháng chủng *B. cereus* ATCC 11778, không đối kháng với 4 chủng còn lại; còn cao chiết n-hexan thể hiện hoạt tính đối kháng cả *B. cereus* ATCC 11778 và *P. putida* 3326K1, không kháng với 3 chủng kiểm định còn lại (bảng 1). Đối với cao chiết methanol, ở nồng độ 2,5; 3,5 và 200 mg/mL, vòng kháng khuẩn với *B. cereus* ATCC 11778 lần lượt là $15,3 \pm 0,6$; $20,7 \pm 1,1$ và $6,3 \pm 0,6$ mm; cao chiết ethyl acetate cũng thể hiện hoạt tính đối kháng *B. cereus* ATCC 11778 ở nồng độ 200 mg/mL và 500 mg/mL, với vòng kháng khuẩn lần lượt là $10,5 \pm 0,7$ và $11,7 \pm 0,6$ mm. Riêng với cao chiết n-hexan, ở nồng độ 1,6 mg/mL thể hiện hoạt tính kháng *B. cereus* ATCC 11778 với đường kính vòng kháng khuẩn đạt $10,3 \pm 0,6$ mm; ở nồng độ 200 mg/mL cho thấy hoạt tính kháng khuẩn với cả *B. cereus* ATCC 11778 và *P. putida* 3326K1, tuy nhiên, đường kính vòng kháng khuẩn không cao, chỉ đạt

Bảng 1. Kích thước vòng kháng khuẩn của ba loại cao chiết lá cây lúc lán

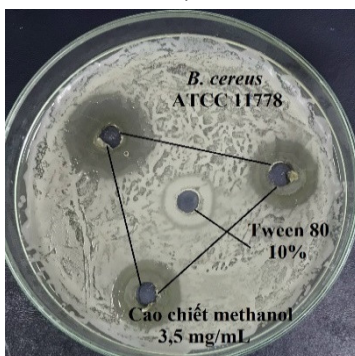
Cao chiết	Nồng độ (mg/mL)	Đường kính vòng kháng khuẩn, mm				
		<i>B. cereus</i> ATCC 11778	<i>P. putida</i> 3326K1	<i>E. coli</i> ATCC 11105	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
M-FN	2,5	15,3 ± 0,6	-	-	-	-
	3,5	20,7 ± 1,1	-	-	-	-
	200	6,3 ± 0,6	-	-	-	-
E-FN	200	10,5 ± 0,7	-	-	-	-
	500	11,7 ± 0,6	-	-	-	-
H-FN	1,6	10,3 ± 0,6	-	-	-	-
	200	5,3 ± 0,6	7,3 ± 0,6	-	-	-

Ghi chú: (-): Không có hoạt tính

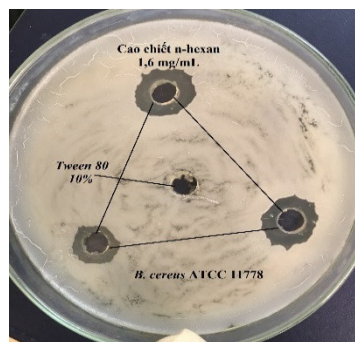
giá trị tương ứng là $5,3 \pm 0,6$ mm và $7,3 \pm 0,6$ mm. Như vậy, cả ba cao chiết nghiên cứu đều đối kháng *B. cereus* ATCC 11778 (bảng 1, hình 3).



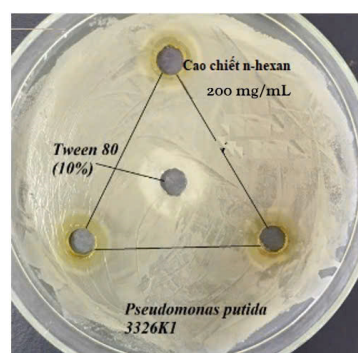
a)



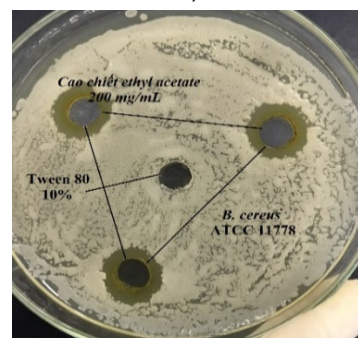
b)



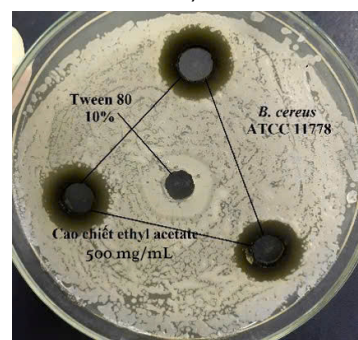
c)



d)



e)



f)

Hình 3. Một số hình ảnh đối kháng vi khuẩn gây bệnh của 3 cao chiết nghiên cứu

a, b - cao chiết methanol; c, d - cao chiết n-hexan; e, f - cao chiết ethyl acetate

Từ các kết quả trên có thể thấy, cao chiết methanol cho hoạt tính đối kháng mạnh nhất trong 3 loại cao chiết lá cây lúc lan, nhưng chỉ kháng được vi khuẩn gram dương là *B. cereus* ATCC 11778, còn cao chiết *n*-hexan, mặc dù hoạt tính đối kháng yếu hơn, nhưng lại có thể kháng được cả vi khuẩn gram dương là *B. cereus* ATCC 11778 và vi khuẩn gram âm là *P. putida* 3326K1. Methanol là dung môi phân cực cao, có khả năng hòa tan được những hợp chất tự nhiên có trong thảo dược [22]. Bên cạnh đó, trong tự nhiên những hợp chất này ở thực vật có khả năng bảo vệ chúng khỏi vi sinh vật gây bệnh [23]. Nghiên cứu của chúng tôi với cao chiết methanol tương tự với kết quả của Oonmettaaree và nhóm cộng sự [24], cho rằng một số hợp chất chiết xuất từ tự nhiên chỉ có thể diệt được một nhóm loại vi khuẩn, cụ thể như chiết xuất có chứa 1' acetoxyeugenol acetate có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn gram dương (*Staphylococcus cerevisiae*, *S. epidermidis*, *S. aureus* và *Bacillus cereus*), nhưng không ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gram âm (*Salmonella* spp., *E. coli* và *Enterobacter aerogenes*). Như vậy có thể thấy, các chiết xuất thực vật có nhiều tiềm năng kháng vi sinh vật gây bệnh; điều đặc biệt, nhiều loại cao chiết đã được sử dụng trong việc điều trị các bệnh do vi khuẩn kháng thuốc gây ra.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tạo các cao chiết phân đoạn methanol, ethyl acetate và *n*-hexan từ lá cây lúc lan đạt hiệu suất tương ứng là 4,02; 3,14 và 5%. Hàm lượng polyphenol chứa trong cây lúc lan được tìm thấy cao nhất trong cao chiết methanol đạt $69,26 \pm 2,11$ mg QE/g. Trong khi đó, hàm lượng flavonoid có trong cây lúc lan trong phân đoạn ethyl acetate là cao nhất đạt $126,16 \pm 1,62$ mg GAE/g. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được thể hiện qua các giá trị EC_{50} của các phép đo năng lực khử, khả năng quét gốc tự do H_2O_2 . Kết quả các phép thử này chứng minh rằng cao chiết methanol của cây lúc lan có hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn các phân đoạn còn lại. Nghiên cứu cũng đã chứng minh khả năng kháng vi sinh vật của các cao chiết đối với chủng *Bacillus cereus* ATCC 11778. Những kết quả đạt được trong nghiên cứu đã góp phần bổ sung các dữ liệu khoa học về thành phần flavonoid, polyphenol; hoạt tính chống oxy hóa và kháng một số chủng vi sinh vật của cây lúc lan được trồng tại Văn Giang, Hưng Yên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Pham Hoang Ho, *An Illustrate Flora of Vietnam*. Tre Publishing, 1999.
- [2]. Flora: *Phyla nodiflora* (L.) Greene. <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/3/7/3716> (Truy cập ngày 6/7/2024).
- [3]. Gross C. L., Fatemi M., Julien M., McPherson H., Klinken R. V., "The phylogeny and biogeography of *Phyla nodiflora* (Verbenaceae) reveals native and invasive lineages throughout the world," *Diversity*, 9 (2), 20, 2017.
- [4]. Yang Y., Lu S., Chen T., "Verbenaceae," *Flora of Taiwan*, 127 (4), 421, 1998.
- [5]. Parmar G. R., Baile S. B., Gohel K., Shah A., Patel S., Seth A. K., "An ethnobotanical and pharmacological review on *Phyla nodiflora*," *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4), 3667-3673, 2020.
- [6]. Abbas T., Ahmad I., Khan Z. I., Okla M. K., Saleh I. A., H. A. Elgawad, "Comparative physiological adaptations to industrial pollution stress mediated by melatonin in riparian vegetation and *Phyla nodiflora* an ornamental plant," *Scientia Horticulturae*, 321, 112367, 2023.
- [7]. Al-Snafi, "Pharmacological and therapeutic effects of *Lippa nodiflora* (*Phyla nodiflora*)," *Journal of Pharmacy*, 15-25, 2019.
- [8]. Võ Văn Chi, *Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Y học, 1677 tr, 2021.
- [9]. Cao T. H., Luc Q. T., Nguyen V. H., Le T. N. Q., Nguyen T. L. H., Nguyen M. H., Trinh D. K., "Assessment of the physicochemical properties and biological activity of Vietnamese single-bulb black garlic," *Food Science*, 49, 101866, 2022.
- [10]. Ferreira Isabel C. F. R., Baptista P., Vilas-Boas M., Barros L., 2007. *Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity*. *Journal of Food chemistry*, 100(4), 1511-1516, 2007.
- [11]. Hue C. T., Oanh N. T. T., Giap T. H., Hang N. T. M., Mishchenko N. P., Fedoreev S. A., Spiridovich E. V., Chau V. M., Vuong N. Q., L.N. Thanh, "Metabolites of the Vietnamese plant *Amaranthus viridis*," *Chemistry of Natural Compounds*, 53, 1150-1151, 2017.
- [12]. Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M., Chern J. C., "Estimation of flavonoid total content in propolis by two complementary colorimetric methods," *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182, 2002.
- [13]. Rahate K. P., Padma R., Parkavi N. G., Renjith V., "Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*," *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 73-77, 2013.
- [14]. Trần Chí Linh, Đái Thị Xuân Trang, Phạm Khánh Nguyên Huân, Võ Thị Tú Anh, Lưu Thái Danh, Trần Thanh Mến, "Khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết từ rễ cây Cò sen (*Milusa velutina*)," *Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc*, 225-231, 2020.

- [15]. Sudha A., Srinivasan P., "Physicochemical and phytochemical profiles of aerial parts of *Lippia nodiflora* L.," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(11), 4263-4271, 2013.
- [16]. Nguyễn Trọng Tuân, Võ Văn Luận, "Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết ethanol Trắc bá diệp *Thuja orie*," *Tạp chí Công Thương*, 19, 335-340, 2019.
- [17]. Zhang C., Suen C. L. C., Yang C., Quek S. Y., "Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade," *Food Chemistry*, 244, 109-119, 2018.
- [18]. Dewick P. M., *Medicinal natural products: A biosynthetic approach*. John Wiley and Sons, Ltd. 2nd edition, p.137-186, 2021.
- [19]. Turker H., Yildirim A. B. and Karakaş F. P., "Sensitivity of *Bacteria* Isolated from Fish to Some Medicinal Plants," *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9, 181-186, 2009.
- [20]. Rosell K. G., Srivastava L. M., "Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae," *Hydrobiologia*, 151/152, 471-475, 1987.
- [21]. Febles C. I., Arias A., Gil-Rodríguez M. C., Hardisson A., Sierra Lopez, A., "In vitro study of antimicrobial activity in algae (*Chlorophyta*, *Phaeophyta* and *Rhodophyta*) collected from the coast of Tenerife," *Anuario del Instituto de Estudios Canarios*, 34, 191-192, 1995.
- [22]. El-Mahmood A. M., Doughari J. H., "Phytochemical screening and antibacterial evaluation of the leaf and root extracts of *Cassia alata* Linn.," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(7), 124-129, 2008.
- [23]. Cowan M. M., "Plant products as antimicrobial agents," *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582, 1999.
- [24]. Oonmetta-Aree J., Suzuki T., Gasaluck P., Eumkeb G., "Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*," *LWT-Food Science and Technology*, 39(10), 1214-1220, 2006.

AUTHORS INFORMATION

**Cao Thi Hue¹, Nguyen Thi Diem², Luc Quang Tan³,
Pham Ngoc Quynh⁴, Tran Thi Phuong Lien⁴,
Tran Thi Hong⁵, Ha Thi Dzung⁶**

¹Thuy Loi University, Vietnam

²Genome Research Institute, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

³Thai Nguyen University - Ha Giang Campus, Vietnam

⁴Hanoi University of Education 2, Vietnam

⁵Central Region Scientific Research Institute, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

⁶Hanoi University of Industry, Vietnam