

Hình 2. Tương quan ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) HMBC quan trọng của hợp chất 5 và 7

4. Kết luận

Bảy hợp chất (1-7) được phân lập và xác định cấu trúc từ cây thóc lép đeo (*D. sequax*) bằng các phương pháp sắc ký và phổ khác nhau. Trong đó bao gồm bốn hợp chất thuộc nhóm phenolic (1-4) và ba hợp chất thuộc khung megastigman (5-7). Các hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ loài

Desmodium sequax nói riêng và chi *Desmodium* nói chung. Kết quả nghiên cứu góp phần vào việc làm sáng tỏ thành phần hóa học của cây thóc lép đeo.

Lời cảm ơn: Công trình này được tài trợ bởi Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam dưới mã số đề tài GUST.STS.ĐT2020-HH15.

Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi (2012), Từ điển cây thuốc Việt Nam, tập 2, NXB Y học, 886-887.
2. Zeba S., Asif Z. (1998), Chemical constituents of *Desmodium sequax*, *Indian Journal of Chemistry*, 37B 1081-1082.
3. Kyekyeku J., Adosraku R., Asare-Nkansah S. (2017), LC-HRESI-MS/MS profiling of flavonoids from *Chlorophora regia* (Moraceae), *Journal of Pharmaceutical Research International*, 16(1), 1-9.
4. Avó J., Cunha-Silva L., Lima J. C., Jorge Parola A. (2014), Design and synthesis of photoactive ionic liquids, *Organic Letters*, 16(10), 2582-2585.
5. Fujioka T., Furumi K., Fujii H., Okabe H., Mihashi K., Nakano Y., Matsunaga H., Katano M., Mori M. (1999), Antiproliferative constituents from Umbelliferae plants. V. A new furanocoumarin and falcariindiol furanocoumarin Ethers from the root of *Angelica japonica*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47(1), 96-100.
6. Ren-Yi G., Lei X., Yi K., Ili-Ming C., Jian-Chun Q., Li L., Sheng-Xiang Y., Li-Chun Z. (2015), Chaetominine, (+)-alantrypinone, questin, isorhodoptilometrin, and 4-hydroxybenzaldehyde produced by the endophytic fungus *Aspergillus sp.* YL-6 inhibit wheat (*Triticum aestivum*) and radish (*Raphanus sativus*) germination, *Journal of Plant Interactions*, 10(1), 87-92.
7. Ferreres F., Andrade P., Tomás-Barberán F.A. (1996), Natural occurrence of abscisic acid in heather honey and floral nectar, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(8), 2053-2056.
8. Yuan Z., Zheng X., Zhao Y., Liu Y., Zhou S., Wei C., Hu Y., Shao H. (2018), Phytotoxic compounds isolated from leaves of the invasive weed *Xanthium spinosum*, *Molecules*, 23(11), 2840.
9. Wu Y., Su J., Guo R. X., Ren T. K., Zhang M., Dong M., Sauriol F., Shi Q., Gu Y., Huo C. (2014), Two new non-taxoids from leaves of *Taxus cuspidata*, *Chemistry of Natural Compounds*, 50(4), 603-605.

Tạp chí Dược liệu, tập 27, số 3/2022 (Trang 135 -142)

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CỦA MỘT SỐ NHÓM CHẤT CHÍNH VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ LÁ NHẬT MẠT HƯƠNG

Nguyễn Nhật Minh, Nguyễn Thanh Phong, Lý Hải Triều, Lâm Bích Thảo*

Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu

*Email: thaonhi19842002@gmail.com

(Nhận bài ngày 06 tháng 5 năm 2022)

Tóm tắt

Nhật mật hương là cây thân thảo được sử dụng chủ yếu làm cảnh ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, nhật mật hương được xác định sự hiện diện và hàm lượng một số nhóm chất chính trong lá như polyphenol, flavonoid và tannin bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis. Hoạt tính kháng oxi hóa của cao lá nhật mật hương được khảo sát bằng phương pháp đánh bắt gốc tự do DPPH và ABTS. Mặt khác, hoạt tính kháng khuẩn của cao lá nhật mật hương cũng được thử nghiệm trên 6 chủng vi khuẩn gây bệnh trên đường hô hấp là *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. Kết quả cho thấy, trong lá nhật mật hương có chứa các nhóm hợp chất quan trọng như tinh dầu, carotenoid, triterpenoid, flavonoid, saponin, acid hữu cơ, chất khử, polyuronic và tannin, trong đó hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin lần lượt là 7,72 mgGAE/g; 2,35 mgRE/g và 1,56 mgTAE/g. Cao lá nhật mật hương cũng có khả năng đánh bắt gốc tự do DPPH và ABTS tốt với IC_{50} lần lượt là 223,19

µg/mL; 275,89 µg/mL. Cao lá nhất mật hương còn ức chế 4 chủng vi khuẩn gây bệnh trên đường hô hấp là *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* với MIC lần lượt là 0,312; 2,5; 0,156 và >5 mg/mL.

Từ khóa: Nhất mật hương, Polyphenol, Flavonoid, Tannin, Kháng oxy hóa, Kháng khuẩn.

Summary

Major Composition Contents and Antibacterial Activities of *Plectranthus hadiensis* var. *tomentosus* Leaf Ethanol Extract

Plectranthus hadiensis var. *tomentosus* (Benth) Codd. (*P. hadiensis*) has a high content of essential oils that is mainly used as an ornamental in Vietnam. In this study, the total content of some major phytochemicals in *P. hadiensis* leaves such as polyphenols, flavonoids, and tannins were determined by UV-Vis spectroscopy. The antioxidant activity of *P. hadiensis* leaf extract was investigated by free radical scavenging DPPH and ABTS assays. The antibacterial activity of the *P. hadiensis* leaf extract was tested on 6 strains of bacteria causing respiratory diseases including *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. The results showed that the *P. hadiensis* leaves contained numerous important phytochemical classes such as essential oils, carotenoids, triterpenoids, flavonoids, saponins, organic acids, reducing agents, polyuronics and tannins, in which the contents of polyphenols, flavonoids and tannins was respectively 7.72 mgGAE/g; 2.35 mgRE/g and 1.56 mgTAE/g. The leaf extract of *P. hadiensis* was high capable scavenger of free radicals DPPH and ABTS with IC₅₀ of 223.19 µg/mL and 275.89 µg/mL, respectively. The extract of *P. hadiensis* inhibited 4 bacteria strains *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* with MIC of 0.312; 2.5; 0.156 and >5 mg/mL, respectively.

Keywords: *Plectranthus hadiensis*, Polyphenols, Flavonoids, Tannins, Antioxidant, Antibacterial activity.

1. Đặt vấn đề

Nhất mật hương (*Plectranthus hadiensis* var. *tomentosus*) họ Bạc hà (Lamiaceae) có nguồn gốc từ Nam Phi, hiện nay được trồng làm cảnh ở Việt Nam. Toàn cây có mùi thơm đặc trưng, theo kinh nghiệm dân gian, nhất mật hương được dùng để đuổi muỗi, khử độc, trị ho và dùng trong một số bài thuốc cổ truyền để trị viêm loét ngoài da [1]. Hiện nay, các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học loài *Plectranthus hadiensis* còn hạn chế. Các nghiên cứu chủ yếu trên các loài thuộc chi *Plectranthus* như *P. amboinicus*, *P. cylindraceus*, *P. zeylanicus*, *P. scutellarioides*. Về thành phần hóa học, các loài chi *Plectranthus* thường chứa các terpen (terpinen; thymol; carvacrol; 1,8-cineol; *p*-cymene; β -caryophyllen...), acid phenolic (acid caffeic, acid gallic, acid *p*-coumaric, acid rosmarinic, acid salvianolic, acid shimobashiric...) và flavonoid (chrysoeriol; cirsimaritin; eriodictyol; luteolin; rutin; salvigenin; quercetin; 5-*O*-methylluteolin; 5,4'-dihydroxy-6,7-dimethoxy flavon; 5,4'-dihydroxy-3,7-dimethoxy flavon...) [2],[3]. Tinh dầu và cao chiết các loài chi *Plectranthus* ở nồng độ thấp thể hiện hoạt tính ức chế trên nhiều chủng vi khuẩn và nấm như *Bacillus subtilis*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*; *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Stemphylium solani* [4].

Ngoài ra, các loài chi *Plectranthus* còn có một số tác dụng khác như kháng viêm, giảm đau, gây độc trên các dòng tế bào ung thư. Cao ethanol *P.*

amboinicus liều 1 g/kg có tác dụng giảm đau, giảm thể tích phù nề chân chuột, giảm hàm lượng malondialdehyd, TNF- α , ức chế COX-2 tương đương Indomethacin liều 10 mg/kg [5]. Cao *n*-hexan và cao dicloroform của *P. zeylanicus* ức chế hoạt động của enzym 5-lipoxygenase với IC₅₀ lần lượt là 6,6 µg/mL và 12 µg/mL [6]. Cao ethanol *P. barbatus* có ức chế HIV-1PR với IC₅₀ là 62 µg/mL, gây độc trên 2 dòng tế bào PBMC và TZM-BL với CC₅₀ lần lượt là 83,7 µg/mL và 50,4 µg/mL [7].

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành xác định sự hiện diện và hàm lượng một số nhóm chất chính trong loài nhất mật hương (*Plectranthus hadiensis*). Đồng thời khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn trên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên đường hô hấp của cao nhất mật hương, định hướng cho các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh lý trên đường hô hấp của dược liệu này.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

2.1.1. Đối tượng:

Lá nhất mật hương được thu hái tại thành phố Hồ Chí Minh và được định danh bởi Bộ Môn Tài Nguyên - Dược liệu (Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh). Dược liệu sau khi thu hái, được làm sạch tạp chất, phơi trong bóng râm đến khi khô rồi xay nhỏ đến kích thước 2 mm.

Lấy 100 g bột nhất mật hương (độ ẩm 9,92%) chiết ngâm kiệt với ethanol 96% (tỉ lệ dược liệu/dung môi là 1/20), dịch chiết được cô quay giảm áp ở 65°C thu được 25,6 g cao đặc (độ ẩm 18,35%), gọi là cao nhất mật hương dùng cho thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn.

2.1.2. Dung môi, hóa chất:

Dung môi: ethanol, methanol, diethyl ether, *n*-hexan, ethyl acetat (Chemsol, Việt Nam). Chất đối chiếu/thuốc thử: acid gallic (Sigma-Aldrich, CAS 149-91-7, Lot. SC-205704), acid tannic (Shanghai Zhanyun Chemical Co. Ltd., CAS 1401-55-4, Lot. Q/OXH001-2000), rutin (Viện kiểm nghiệm thuốc, CAS 117-39-5, QT-152050417), acid ascorbic (Sigma-Aldrich, CAS: 50-81-7, Lot. SLCC2424), DPPH (Sigma-Aldrich, CAS 84077-81-6, Lot. STBH2589), ABTS (Sigma-Aldrich, CAS 30931-67-0, Lot. SLBZ8095).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Sơ bộ thành phần hóa thực vật của nhất mật hương:

Mẫu dược liệu được phân tích xác nhận các nhóm hợp chất hóa thực vật bằng các phản ứng định tính chuyên biệt theo quy trình của I. Ciuley (Trường Đại học Dược khoa Bucarest, Rumania) có sửa đổi và bổ sung bởi Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược (Đại Học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh) [8].

2.2.2. Xác định hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin trong nhất mật hương:

Polyphenol

- Mẫu chuẩn: Acid gallic pha trong nước có nồng độ 10 - 50 µg/mL.

- Mẫu thử: Cân chính xác 1 g bột nhất mật hương, chiết siêu âm với 50 mL *n*-hexan để loại tạp, gạn bỏ dịch *n*-hexan. Dược liệu tiếp tục được chiết hồi lưu với 100 mL methanol 80% trong 8 giờ. Lọc thu dịch chiết, cô cạn đến cạn, hòa tan cần và định mức đến 250 mL bằng nước cất được dung dịch mẫu thử.

- Tiến hành: Hút 1 mL dung dịch thử hoặc dung dịch chuẩn thêm 5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và 4 mL Na₂CO₃ 7,5%. Hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 760 nm bằng máy đo quang phổ UV-Vis (Coulter Beckman DU730, Đức). Hàm lượng polyphenol được biểu thị là số mg đương lượng acid gallic trên 1 g dược liệu khô kiệt (mgGAE/g) [9].

Flavonoid

- Mẫu chuẩn: Rutin pha loãng trong methanol có nồng độ 40 - 120 µg/mL.

- Mẫu thử: Cân chính xác 2 g bột nhất mật hương, chiết soxhlet với 200 mL methanol trong 8 giờ. Dịch chiết được cô giảm áp thu cần, hòa cần trong 30 mL nước, chuyển vào bình lắng gạn. Chiết lỏng-lỏng với *n*-hexan để loại tạp. Chiết tiếp lớp nước với ethyl acetat. Thu dịch ethyl acetat cô giảm áp đến cần, hòa tan cần và định

mức đến 50 mL bằng methanol thu được dung dịch mẫu thử.

- Tiến hành: Hút chính xác 1 mL dung dịch thử hoặc chuẩn, thêm 8 mL methanol và 1 mL dung dịch AlCl₃ 2%, lắc đều. Hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 435 nm bằng máy đo quang phổ UV-Vis (Coulter Beckman DU730, Đức). Hàm lượng flavonoid được biểu thị là số mg đương lượng rutin trên 1 g dược liệu khô kiệt (mgRE/g) [9].

Tannin

- Mẫu chuẩn: Acid tannic pha loãng trong nước có nồng độ 20 - 100 µg/mL.

- Mẫu thử: Cân chính xác 2 g bột nhất mật hương chiết loại tạp với 50 mL *n*-hexan, gạn bỏ phần dịch *n*-hexan. Dược liệu tiếp tục được chiết hồi lưu với 100 mL nước trong 8 giờ. Dịch chiết được cô bay hơi đến còn lại khoảng 40 mL trước khi chuyển vào bình định mức 50 mL, thêm nước đến vạch được dung dịch thử.

- Tiến hành: Lấy 1 mL dung dịch thử hoặc chuẩn thêm 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, 2 mL Na₂ CO₃ bão hòa và 7,5 mL nước cất, ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm bằng máy đo quang phổ UV-Vis (Coulter Beckman DU730, Đức). Hàm lượng tannin biểu thị bằng số mg đương lượng acid tannic trong 1 g mẫu dược liệu khô (mgTAE/g) [10].

Tính toán

Hàm lượng các hợp chất được xác định theo công thức sau

$$X = \frac{C \times k \times p}{10 \times m}$$

Trong đó: *X* (mg/g) là hàm lượng hợp chất trong mẫu dược liệu, *C* (µg/mL) là nồng độ các hợp chất suy ra từ đường chuẩn, *k* (mL) là tổng thể tích pha loãng, *p* (%) là độ tinh khiết của chuẩn, *m* (g) là khối lượng mẫu đã trừ ẩm.

2.2.3. Khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa của cao nhất mật hương bằng thử nghiệm đánh bắt gốc tự do DPPH và ABTS:

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Cao nhất mật hương được hòa tan trong methanol có nồng độ 78,125 - 1250 µg/mL được dùng làm dung dịch thử. Acid ascorbic hòa tan trong methanol có nồng độ 0,625 - 5 µg/mL làm dung dịch đối chiếu. Tiến hành phản ứng gồm 0,5 mL mỗi dịch thử hoặc chất đối chiếu, 4 mL methanol và 0,5 mL dung dịch DPPH 0,6 mM. Lắc đều và để yên trong tối 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm bằng máy đo quang phổ UV-Vis (Beckman Coulter DU730,

Đức). Acid ascorbic được sử dụng làm đối chứng dương [9].

ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

Cao nhất mật hương được hòa tan trong methanol có nồng độ 78,125 - 1250 µg/mL được dùng làm dung dịch thử. Acid ascorbic hòa tan trong methanol có nồng độ 0,416 - 2,5 µg/mL làm dung dịch đối chiếu. Dung dịch ABTS được chuẩn bị bằng cách cho dung dịch ABTS nồng độ 7 mM vào dung dịch potassium persulfat 2,4 mM,

ủ 16 giờ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng. Pha loãng dung dịch ABTS đã hoạt hóa với methanol. Trộn 1 mL mẫu thử hoặc chất đối chiếu với 1 mL dung dịch ABTS đã pha loãng, đo độ hấp thụ quang ở 734 nm sau 7 phút ở nhiệt độ phòng bằng máy đo quang phổ UV-Vis (Beckman Coulter DU730, Đức). Acid ascorbic được sử dụng làm chứng dương [9].

Tính toán

Hoạt tính kháng oxy hóa (HTKO%) được tính theo công thức:

$$HTKO(\%) = \frac{(OD_c - OD_{co}) - (OD_t - OD_{to})}{(OD_c - OD_{co})} \times 100$$

Trong đó: OD_c là độ hấp thụ của mẫu chứng DPPH (hoặc ABTS), OD_{co} là độ hấp thụ của mẫu trắng chứng; OD_t là độ hấp thụ của mẫu có chứa chất thử, OD_{to} là độ hấp thụ của mẫu chứa chất thử nhưng không có DPPH (hoặc ABTS).

2.2.4. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* của cao nhất mật hương:

Xác định đường kính vòng kháng khuẩn

Các chủng vi khuẩn thử nghiệm *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 12344), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Haemophilus influenzae* (ATCC 49247) sau khi hoạt hóa có mật độ khoảng 1×10^7 - 1×10^8 CFU/mL được trải đều lên đĩa thạch Muller - Hinton (MHA), bổ sung 5% máu đối với chủng *Streptococcus pneumoniae* và sử dụng thạch chocolate đối với chủng *Haemophilus influenzae*. Dùng dụng cụ đục lỗ thạch có đường kính 6 mm. Cho vào mỗi lỗ 100

µL cao chiết thử nghiệm ở các nồng độ khác nhau. Ủ các đĩa thạch ở 37°C trong 24 giờ. Cefotaxime (Merck) được sử dụng làm chứng dương. DMSO 5% được dùng làm chứng âm [11].

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Cao chiết nhất mật hương được pha trong DMSO 5% có nồng độ gốc 50 mg/mL. Khi sử dụng được tiếp tục pha loãng trong các ống nghiệm bằng môi trường thử nghiệm tạo thành dãy nồng độ: 5 - 0,078 mg/mL. Đổ các ống nghiệm chứa cao đã pha loãng ra các đĩa petri, để nguội cho đông rắn. Hút 1 µL huyền trọc vi khuẩn đã chuẩn bị cấy lên trên bề mặt thạch, ủ ở 37°C trong 24 giờ. Cefotaxime (Merck) được sử dụng làm chứng dương. DMSO 5% được dùng làm chứng âm. Quan sát bằng mắt thường vết vi khuẩn mọc lên tại vết cấy và ghi nhận giá trị MIC [11].

3. Kết quả

3.1. Thành phần hóa thực vật trong lá nhất mật hương

Bảng 1. Kết quả thành phần hợp chất hóa thực vật trong lá nhất mật hương

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Cách phát hiện	Kết quả
Chất béo	Nhỏ dung dịch lên giấy	Vết trong mờ	-
Carotenoid	H ₂ SO ₄ đậm đặc	Vết màu xanh hoặc đỏ	+
Tinh dầu	Cần dịch chiết có mùi thơm	Có mùi thơm đặc trưng	+
Triterpenoid	Phản ứng Liebermann-Burchard	Có vòng ngăn cách màu tím	+
Alcaloid	Thuốc thử Dragendorff	Có kết tủa cam đến đỏ	-
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang dưới đèn UV 365 nm	-
Antraglycosid	KOH 10%	Lớp kiềm có màu hồng đến đỏ	-
Flavonoid	Mg/HCl đậm đặc	Dung dịch chuyển sang hồng đến đỏ	+
Tannin	FeCl ₃ 5%	Kết tủa xanh đen	+
	Gelatin-muối	Kết tủa trắng	
Saponin	Phản ứng tạo bọt	Cột bọt bền 15 phút	+
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃ tinh thể	Có bọt khí	+
Hợp chất khử	Phản ứng Fehling	Kết tủa màu đỏ gạch	+
Polyuronic	Pha loãng với cồn 90%	Kết tủa bông trắng	+

(-): không có; (+): có.

Sau khi chiết xuất được liệu lần lượt với các dung môi diethyl ether, ethanol 96% và nước, tiến hành thực hiện định tính hợp chất trong dịch chiết bằng phản ứng với các thuốc thử đặc trưng. Kết quả cho thấy dịch chiết nhất mật hương dương tính với các thuốc thử đặc trưng

của các nhóm hợp chất: tinh dầu, carotenoid, triterpenoid, polyphenol, flavonoid, tannin, acid hữu cơ, các hợp chất khử và hợp chất polyuronic (Bảng 1).

3.2. Hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin trong lá nhất mật hương

Bảng 2. Các đường chuẩn dùng cho định lượng

Chuẩn đối chiếu	Đường chuẩn	R ²
Acid gallic	$y = 0,013x - 0,1875$	0,9985
Acid tannic	$y = 0,0085x - 0,0439$	0,9969
Rutin	$y = 0,0043x - 0,0078$	0,9990

Đường chuẩn được xây dựng dựa trên mối tương quan giữa nồng độ và độ hấp thụ của các chuẩn acid gallic, acid tannic và rutin đo ở các bước sóng lần lượt là 760 nm, 700 nm và 435 nm (Bảng 2). Các đường chuẩn thu được có dạng $y = ax + b$ trong đó y là độ hấp thụ quang, x (µg/mL) là nồng độ của chất chuẩn tương ứng, a và b lần lượt là hệ số góc và tung độ góc của

đường chuẩn. Hệ số tương quan của đường chuẩn $R^2 > 0,99$, chứng tỏ nồng độ và độ hấp thụ quang của các chuẩn acid gallic, acid tannic và rutin có mối quan hệ rất chặt chẽ trong khoảng nồng độ khảo sát. Áp dụng đường chuẩn đã xây dựng xác định hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin trong dược liệu thu được kết quả ở Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin trong lá nhất mật hương

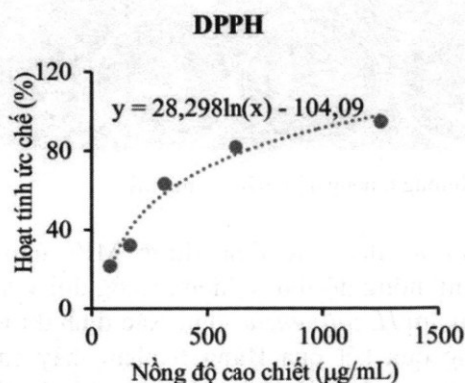
Stt	Hợp chất	Hàm lượng tính trên khối lượng dược liệu khô
1	Polyphenol	$7,72 \pm 0,15$ mgGAE/g
2	Tannin	$1,56 \pm 0,17$ mgTAE/g
3	Flavonoid	$2,35 \pm 0,09$ mgRE/g

Hàm lượng polyphenol, tannin và flavonoid trong lá nhất mật hương có giá trị lần lượt là 7,72 mg GAE/g; 1,56 mgTAE/g và 2,35 mgRE/g, tính trên khối lượng dược liệu khô. Kết quả định lượng cho thấy các hoạt chất trong lá nhất mật hương thu hái tại Hồ Chí Minh có hàm lượng tương đối cao và khá tương đồng khi so sánh với loài *P. amboinicus* cùng chi với nhất mật hương

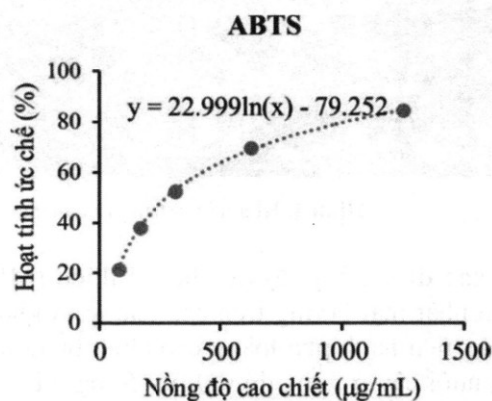
có hàm lượng polyphenol và tannin lần lượt là 8,4 mgGAE/g và 0,7 mgTAE/g [2].

3.3. Hoạt tính kháng oxi hóa của cao nhất mật hương

Cao nhất mật hương ở khoảng nồng độ 78 - 1250 µg/mL thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa tương đối mạnh trên 2 thử nghiệm đánh bắt gốc tự do DPPH và ABTS (Hình 1 và Hình 2).

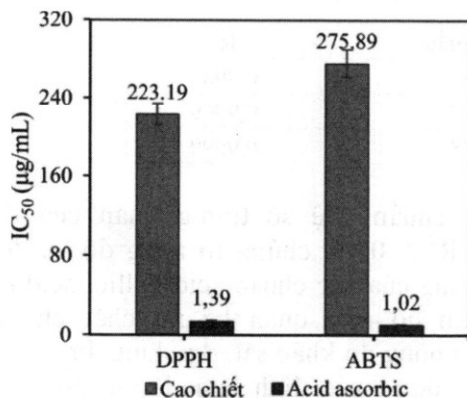


Hình 1. Hoạt tính đánh bắt gốc tự do DPPH của cao chiết nhất mật hương



Hình 2. Hoạt tính đánh bắt gốc tự do ABTS của cao chiết nhất mật hương

Hiệu quả đánh bắt gốc tự do DPPH và ABTS của cao chiết nhất mật hương cũng được xác định thông qua giá trị IC_{50} ở **Hình 3**. Giá trị IC_{50} của cao nhất mật hương trong thử nghiệm kháng oxi hóa với DPPH và ABTS lần lượt là 223,19 và 275,89 $\mu\text{g/mL}$ so với chứng dương là acid ascorbic lần lượt 1,39 và 1,02 $\mu\text{g/mL}$.



Hình 3. Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) của cao chiết nhất mật hương trong thử nghiệm kháng oxi hóa DPPH và ABTS

3.4. Hoạt tính kháng khuẩn của cao nhất mật hương

3.4.1. Đường kính vòng kháng khuẩn:

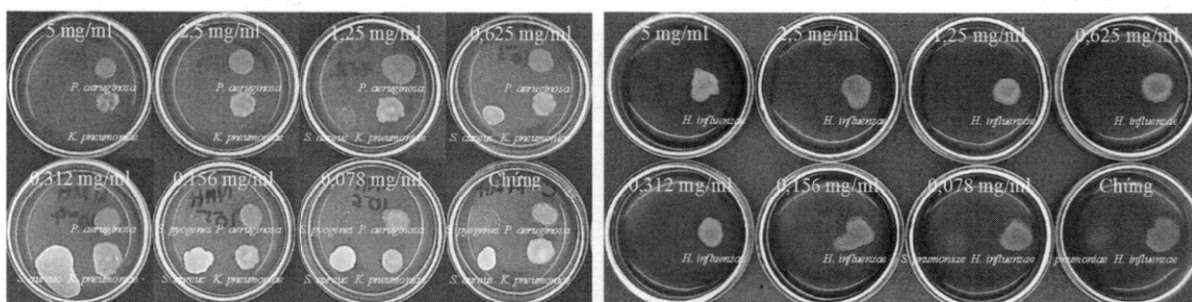
Thử nghiệm định tính khả năng kháng khuẩn của cao nhất mật hương bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch cho thấy cao nhất mật hương nồng độ 200 mg/mL ức chế được sự phát triển của 4 chủng vi khuẩn gây bệnh trên đường hô hấp thử nghiệm bao gồm *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*. Quan sát kết quả đường kính vòng kháng khuẩn ở **Bảng 4** thấy rằng cao nhất mật hương ức chế sự phát triển của 3 chủng Gram dương là *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. aureus* và 1 chủng Gram âm là *H. influenzae*. Đối chứng dương là Cefotaxime ức chế 6 chủng thử nghiệm với đường kính vòng kháng khuẩn từ từ 15 - 45 mm.

Bảng 4. Đường kính vòng kháng khuẩn (mm) của cao nhất mật hương

Stt	Chủng thử nghiệm	Cao chiết	Cefotaxime	Chứng âm
1	<i>S. pyogenes</i>	19	45	-
2	<i>P. aeruginosa</i>	-	21	-
3	<i>S. aureus</i>	14	25	-
4	<i>K. pneumoniae</i>	-	28	-
5	<i>S. pneumoniae</i>	20	37	-
6	<i>H. influenzae</i>	11	15	-

"-": không có hoạt tính kháng khuẩn, đường kính vòng kháng khuẩn bao gồm đường kính lỗ thạch 6 mm.

3.4.2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC):



Hình 4. Khả năng kháng khuẩn của cao nhất mật hương ở nồng độ 0,078 - 5 mg/mL

Để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao nhất mật hương trên các chủng vi khuẩn khảo sát, tiến hành pha loãng cao chiết bằng môi trường nuôi cấy ở nồng độ 0,078 - 5 mg/mL , sau 24 giờ nuôi cấy nhận được kết quả thử nghiệm như **Hình 4**. Quan sát bằng mắt thường, ở 3 chủng Gram dương *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*,

S. aureus đều xác định được MIC nằm trong khoảng nồng độ thử nghiệm, riêng đối với chủng Gram âm *H. influenzae* chưa xác định được MIC. Thông qua kết quả **Bảng 5** nhận thấy cao nhất mật hương thể hiện hoạt tính ức chế tốt nhất đối với chủng *S. pneumoniae* (MIC = 0,156 mg/mL), tiếp theo là các chủng *S. pyogenes* (MIC = 0,312

mg/mL), *S. aureus* (MIC = 2,5 mg/mL) và ức chế yếu nhất đối với chủng *H. influenzae* (MIC > 5 mg/mL). Chứng dương Cefotaxime có MIC < 8 µg/mL trên các chủng vi khuẩn thử nghiệm (Bảng 5).

Bảng 5. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao nhất mật hương

Stt	Chủng thử nghiệm	Cao nhất mật hương (mg/mL)	Cefotaxime (µg/mL)
1	<i>S. pyogenes</i>	0,312	<0,0156
2	<i>P. aeruginosa</i>	-	8
3	<i>S. aureus</i>	2,5	1
4	<i>K. pneumoniae</i>	-	0,0625
5	<i>S. pneumoniae</i>	0,156	0,0312
6	<i>H. influenzae</i>	>5	8

4. Bàn luận

Qua quá trình khảo sát bằng các phản ứng định tính đặc trưng cho thấy trong lá Nhất mật hương chứa nhiều nhóm chất thứ cấp quan trọng như tinh dầu, triterpenoid, flavonoid, tannin, saponin, acid hữu cơ, các hợp chất khử. Kết quả khảo sát thành phần hóa thực vật của lá nhất mật hương thu hái tại Thành phố Hồ Chí Minh phù hợp với công bố trước đây của Nguyễn Thị Cẩm Duyên và cs. [12], trong đó tinh dầu, triterpenoid, phenolic và flavonoid là các hợp chất chính quan trọng được xem mang lại nhiều hoạt tính sinh học quý cho loài nhất mật hương. Trong báo cáo này, nhóm các hợp chất polyphenol, flavonoid, tannin có hàm lượng tương đối cao được xác định bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis, có giá trị lần lượt là 7,72 mgGAE/g; 2,35 mgRE/g; 1,56 mgTAE/g. Ji và cs. (2019) cũng đã bước đầu phân lập được một số cấu trúc phenolic và flavonoid từ phần trên mặt đất nhất mật hương như luteolin 7-*O*-glucuronid, acid rosmarinic, casticin, ayanin, (+)-plectranthol [13]. Khi tiến hành thử nghiệm đánh bắt gốc tự do DPPH và ABTS, cao chiết ethanol nhất mật hương thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa đáng kể, phụ thuộc nồng độ, với IC₅₀ trên mỗi thử nghiệm lần lượt là 223,19 µg/mL và 275,89 µg/mL. Hoạt tính kháng oxi hóa của cao nhất mật hương được xem là do hàm lượng lớn các polyphenol và flavonoid mang lại, nhờ cấu trúc phân tử gồm các nhóm -OH linh động gắn với nhân thơm, các polyphenol và

flavonoid dễ dàng nhường proton giúp trung hòa gốc tự do DPPH và ABTS. Gần đây nhất, trong báo cáo của Ntungwe và cs. (2021), khi sử dụng acetone để chiết nhất mật hương thì ở nồng độ 10 µg/mL, cao acetone dập tắt được 36,24% gốc tự do DPPH, thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa tốt hơn so với khi chiết với ethanol 96%. Ngoài các hợp chất phenolic, Ntungwe và cs. còn cho rằng các abietan diterpen cũng đóng vai trò quan trọng mang lại tác động kháng oxi hóa cho nhất mật hương [14].

Cao chiết ethanol 96% lá nhất mật hương có tác dụng kháng khuẩn trên 4 chủng: *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*. Đây là các chủng vi khuẩn nguy hiểm, là nguyên nhân của nhiều bệnh lý trên người. Trong đó, *S. pyogenes* là vi khuẩn Gram dương gây nhiễm trùng bề ngoài da, từ nhẹ đến toàn thân, có thể dẫn đến hoại tử. *S. aureus* là vi khuẩn Gram dương hiếu khí có trong nhiều môi trường sống, gây ra nhiễm trùng da, loét, phỏng da, nhiễm trùng máu. *S. pneumoniae* là vi khuẩn Gram dương, *H. influenzae* là vi khuẩn Gram âm đều được tìm thấy ở cơ quan hô hấp trên ở người, gây nhiễm trùng đường hô hấp, viêm phổi, nhiễm trùng máu, viêm màng não. Khi thử nghiệm với mô hình khuếch tán trên đĩa thạch, cao nhất mật hương ức chế tốt các chủng vi khuẩn Gram dương với MIC trong khoảng 0,156 - 2,5 µg/mL và ức chế mức trung bình chủng Gram âm *H. influenzae* với MIC > 5 mg/mL. Ở nghiên cứu của Ntungwe và cs. (2021), cao chiết acetone nhất mật hương cũng ức chế tốt 2 chủng vi khuẩn *S. aureus*, MRSA và 1 chủng nấm *Candida albicans* với MIC lần lượt là 15,62 µg/mL; 3,91 µg/mL và 62,5 µg/mL [14]. Một số nghiên cứu tương tự trước đây trên chi *Plectranthus* như loài *P. neochilus* cũng thể hiện khả năng ức chế trên nhiều nhóm vi khuẩn thử nghiệm như *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus casei* và *Streptococcus mutans* với MIC từ 3,9 - 250 µg/mL [15]. Tinh dầu chiết từ lá *P. amboinicus* cũng ức chế tốt 4 chủng *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica* với MIC từ 2,5 - 5 mg/mL [16]. Các loài chi *Plectranthus* có thành phần chính là tinh dầu chứa nhiều các terpenoid, chủ

yếu thuộc nhóm terpen như các monoterpen (carvacrol; thymol; carvon; α -pinen; p -cymen; 1,8-cineol) và sesquiterpen (β -caryophyllen; caryophyllen oxid; α -amorphen; γ -cadinen; patchoulan). Terpenoid là nhóm chất có tác dụng kháng khuẩn mạnh, ức chế tốt nhiều chủng vi khuẩn khác nhau. Ngoài ra, các hợp chất phenolic và flavonoid cũng chiếm hàm lượng lớn, có vai trò mang lại nhiều tác dụng cho các loài chi *Plectranthus* như kháng viêm, giảm đau, gây độc trên các dòng tế bào ung thư [17]. Do vậy, nhất mật hương được xem là nguồn cung cấp tiềm năng chất kháng sinh tự nhiên, có thể dùng làm

nguyên liệu trong các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh lý viêm nhiễm do vi khuẩn hoặc vi nấm.

5. Kết luận

Nhất mật hương là loài dược liệu mới, chứa nhiều hợp chất thứ cấp quan trọng với hàm lượng cao. Cao chiết nhất mật hương không chỉ thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa mà còn ức chế nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh trên đường hô hấp và ngoài da. Nhất mật hương có tiềm năng ứng dụng vào các sản phẩm hỗ trợ và điều trị các bệnh về da và nhiễm khuẩn đường hô hấp như viêm họng, nhiễm trùng da cổ họng, sưng tấy cổ họng dưới dạng chế phẩm dầu xoa hoặc kem bôi ngoài da.

Tài liệu tham khảo

1. Lukhoba C. W., Simmonds M. S., Paton A. J. (2006). *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 1-24.
2. Arumugam G., Swamy M. K., Sinniah U. R. (2016). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: botanical, phytochemical, pharmacological and nutritional significance. *Molecules*, 21(4), 369-26.
3. Marwah R. G., Fatope M. O., Deadman M. L., Ochei J. E., Al-Saidi S. H. (2007). Antimicrobial activity and the major components of the essential oil of *Plectranthus cylindraceus*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(4), 1220-1226.
4. Kapewangolo P., Hussein A. A., Meyer D. (2013). Inhibition of HIV-1 enzymes, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Plectranthus barbatus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(1), 184-190.
5. Gurgel A. P. A. D., da Silva J. G., Grangeiro A. R. S., Oliveira D. C., Lima C. M. P., da Silva A. C. P., Souza I. A. (2009). *In vivo* study of the anti-inflammatory and antitumor activities of leaves from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2), 361-363.
6. Napagoda M., Gerstmeier J., Wesely S., Popella S., Lorenz S., Scheubert K. (2014). Inhibition of 5-lipoxygenase as anti-inflammatory mode of action of *Plectranthus zeylanicus* Benth and chemical characterization of ingredients by a mass spectrometric approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(2), 800-809.
7. Kapewangolo P., Hussein A. A., Meyer D. (2013). Inhibition of HIV-1 enzymes, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Plectranthus barbatus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(1), 184-190.
8. Bộ Môn Dược liệu (2014). *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh, 25-41.
9. Miliauskas G., Venskutonis P. R., Van Beek T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
10. Safeena M. I. S., Kalinga J. (2020). Qualitative and quantitative screening of secondary metabolites in selected medicinal plants of Sri Lanka. *Journal of Medicinal Plants*, 8(5), 94-100.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2021). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31th Edition, M100-ed31.
12. Nguyễn Thị Cẩm Duyên, Hoàng Hữu An, Đỗ Hoàng Đăng Khoa (2020). Nghiên cứu đặc điểm thực vật và sơ bộ thành phần hóa học cây Nhất mật hương (*Plectranthus hadiensis* var. *tomentosus* (Benth. ex E. Mey.) Codd, họ Lamiaceae). *Tạp chí Khoa học & Công nghệ*, 10, 11-14.
13. Ji H. S., Li H., Mo E. J., Kim U. H., Kim Y. H., Park H. Y., Jeong T. S. (2019). Low-density lipoprotein-antioxidant flavonoids and a phenolic ester from *Plectranthus hadiensis* var. *tomentosus*. *Applied Biological Chemistry*, 62(1), 1-12.
14. Ntungwe E., Domínguez-Martín E.M., Teodósio C., Teixidó-Trujillo S., Armas Capote N., Saraiva L., Rijo P. (2021). Preliminary biological activity screening of *Plectranthus* spp. extracts for the search of anticancer lead molecules. *Pharmaceuticals*, 14(5), 402-413.
15. Crevelin E. J., Caixeta S. C., Dias H. J., Groppo M., Cunha W. R., Martins C. H. G., Crotti A. E. M. (2015). Antimicrobial activity of the essential oil of *Plectranthus neochilus* against Cariogenic bacteria. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-6, 2015:102317. doi: 10.1155/2015/102317.
16. Erny Sabrina M. N., Razali M., Mirfat A. H. S., Mohd Shukri M. A. (2014). Antimicrobial activity and bioactive evaluation of *Plectranthus amboinicus* essential oil. *American Journal of Research Communication*, 2(12), 121-127.
17. Mothana R. A., Khaled J. M., Noman O. M., Kumar A., Alajmi M. F., Al-Rehaily A. J., Kurkuoglu M. (2018). Phytochemical analysis and evaluation of the cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from three *Plectranthus* species grown in Saudi Arabia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 237-245.