



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.159

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT LÁ CÂY VỌNG CÁCH (*Premna serratifolia* (L.))

Đái Thị Xuân Trang¹, Trần Chí Linh¹, Nguyễn Thanh Nhị², Phan Kim Định¹, Trần Thanh Mến¹ và Nguyễn Trọng Tuân^{1*}

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Trọng Tuân (email: trongtuân@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 14/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 22/06/2018

Ngày duyệt đăng: 27/12/2018

Title:

Investigation of bioactivities of the extract from *Premna serratifolia* (L.) leaves

Từ khóa:

Kháng oxi hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, *Premna serratifolia* (L.)

Keywords:

Antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, *Premna serratifolia* (L.)

ABSTRACT

This study is aimed to evaluate antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities of the methanolic leaf extract of *Premna serratifolia* (L.). The results showed that the methanolic leaf extract displayed good antioxidant activities for DPPH, ABTS⁺ and reducing power methods. In addition, this extract gave high antimicrobial effect against six bacterial strains including: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Vibrio parahaemolyticus*. However, it had no effectiveness when testing with *Bacillus cereus* and *Enterobacter cloacae*. Besides, the methanolic leaf extract of *Premna serratifolia* (L.) possessed very high anti-inflammatory activity, with $IC_{50} = 4.33 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$. Total phenolic and total flavonoid contents were $59.55 \pm 0.22 \text{ mg GAE/g}$ and $609.62 \pm 15.21 \text{ mg QE/g}$, respectively. These findings indicated that *Premna serratifolia* (L.) is a very potential herb containing lots of natural antioxidant and antibacterial compounds.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa, kháng khuẩn và kháng viêm của cao chiết methanol lá Vọng Cách (*Premna serratifolia* (L.)). Kết quả cho thấy, cao chiết thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa tốt khi khảo sát cả ba phương pháp DPPH, ABTS⁺ và khử sắt. Thêm vào đó, cao chiết này cũng cho hiệu quả kháng khuẩn cao với 6 chủng vi khuẩn: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Vibrio parahaemolyticus*, tuy nhiên nó không hiệu quả kháng lại 2 chủng vi khuẩn *Bacillus cereus* và *Enterobacter cloacae* khi thử nghiệm. Ngoài ra, cao chiết methanol lá Vọng Cách cũng thể hiện hoạt tính kháng viêm in vitro cao với giá trị $IC_{50} = 4,33 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$. Hàm lượng polyphenol và flavonoid được xác định là $59,55 \pm 0,22 \text{ mg GAE/g}$ cao chiết và $609,62 \pm 15,21 \text{ mg QE/g}$ cao chiết. Nghiên cứu cho thấy, cây Vọng Cách là một dược liệu tiềm năng chứa nhiều các hợp chất kháng oxi hóa và kháng khuẩn tự nhiên.

Trích dẫn: Đái Thị Xuân Trang, Trần Chí Linh, Nguyễn Thanh Nhị, Phan Kim Định, Trần Thanh Mến và Nguyễn Trọng Tuân, 2018. Khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây vọng cách (*Premna serratifolia* (L.)). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(9A): 46-52.

1 GIỚI THIỆU

Các dạng oxy hoạt động (reactive oxygen species-ROS) là nguyên nhân gây ra nhiều bệnh tật nguy hiểm như ung thư, bệnh tim mạch, đục thủy tinh thể, hen suyễn, viêm gan, tổn thương gan và các bệnh suy giảm miễn dịch (Lee *et al.*, 2004). Các hợp chất chống oxy hóa như polyphenol và flavonoid có tác dụng làm sạch các gốc tự do như peroxide, hydroperoxide hoặc lipid peroxide và do đó ức chế các cơ chế oxy hóa dẫn đến các bệnh thoái hóa (Wu *et al.*, 2011). Ngoài ra, các bệnh nhiễm khuẩn qua da, đường hô hấp, đường tiêu hóa ngày càng phổ biến và nguy hiểm. Việc điều trị chủ yếu dựa vào các loại thuốc kháng sinh tổng hợp, đã làm cho hiện tượng quen thuốc, kháng thuốc do lạm dụng kháng sinh trong điều trị bệnh ngày càng tăng. Do đó, trong những năm gần đây việc tìm kiếm các hợp chất kháng oxy hóa, kháng khuẩn tự nhiên không độc hại được ly trích từ thực vật được quan tâm và đẩy mạnh.

Cây Vọng Cách (*Premna serratifolia* (L.)) là một loại cây bụi, thuộc họ Verbenaceae, phổ biến ở vùng nhiệt đới và vùng cận nhiệt đới trên khắp thế giới. Ở Việt Nam, cây Vọng Cách thường được trồng làm cây cảnh. Ở Ấn Độ, cây Vọng Cách là một trong mười thành phần quan trọng trong công thức thảo mộc được gọi là "Dashmula" có tác dụng chống viêm khớp, thận, dạ dày. Một số nghiên cứu cho thấy, các cao chiết từ vỏ thân và gỗ cây Vọng Cách có khả năng kích thích tim (Rajendran *et al.*, 2008), hoạt tính kháng khuẩn (Rajendra, 2010) và kháng oxy hóa (Nguyen and Eun, 2011). Ngoài ra, rễ của cây Vọng Cách còn chứa các hoạt chất sinh học bao gồm alkaloid, flavonoid, glycosid, tanin, phenol và diterpenoid (Mali and Bhadane, 2010; Yadav *et al.*, 2011). Tuy nhiên, những nghiên cứu về khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn của lá Vọng Cách chưa được quan tâm nhiều. Vì vậy, việc xác định hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của lá cây Vọng Cách rất cần thiết để xem xét khả năng thay thế chất oxy hóa tổng hợp, giúp cân bằng hệ thống chất kháng oxy hóa trong cơ thể.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1 Phương tiện

Vật liệu thí nghiệm: Lá cây Vọng Cách thu hái ở huyện Bình Tân và huyện Vũng Liêm, Vĩnh Long được định bởi ThS. Nguyễn Kim Đua, Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam (Phạm Hoàng Hộ, 2003).

Các dòng vi khuẩn sử dụng trong thử nghiệm: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus cereus*

15.100816, *Samonella typhirinum* 13.100816, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27855, *Enterobacter cloacae* LMG 2683 và *Vibrio parahaemolyticus* RIMD 2210633 tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

Thiết bị: Tủ cấy (Class II BSC, Esco, Indonesia), nồi hấp khử trùng autoclave (HVE-50, Hirayama, Nhật), máy ly tâm (Mikro 12-24, Hettich, Đức), máy đo quang phổ (Beckman Coulter 640B, Mỹ), máy cô quay chân không (Heidolph, Đức) và các thiết bị khác.

Hóa chất: ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazonline-6-sulfonate), vitamin C, trolox, gallic acid, quercetin, butylated hydroxyanisole (BHA), K₂S₂O₈, Folin-Ciocalteu reagent, K₃Fe(CN)₆, Cl₃CCOOH (Merck), albumin huyết thanh bò (BSA) (Ấn Độ), diclofenac (99,8%, viện kiểm nghiệm TP. HCM), prednisolon (99,8%, viện kiểm nghiệm TP. HCM), amoxicillin 500 mg (Nâu-Vàng) và một số hóa chất khác.

2.2 Phương pháp thực nghiệm

2.2.1 Điều chế cao chiết

Lá cây Vọng Cách sau khi thu về được rửa sạch và sấy khô ở nhiệt độ từ 40-45°C. Mẫu sau khi khô được xay nhuyễn thành mẫu bột nguyên liệu. Bột nguyên liệu được cho vào trong túi vải và ngâm trong methanol. Mẫu được ngâm 5 lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô quay đuổi dung môi thu được cao chiết methanol lá Vọng Cách (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.2.2 Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH

Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết methanol lá Vọng Cách được xác định theo Sharma and Bhat (2009) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 µL DPPH (1000 µg/mL) và 960 µL cao chiết methanol lá Vọng Cách (ở các nồng độ: 10, 20, 30, 40 và 50 µg/mL). Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 30°C trong thời gian 30 phút; sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm.

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS^{•+}

Hoạt động loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS^{•+} mô tả bởi Nikolaos *et al.* (2004). Dung dịch ABTS^{•+} được chuẩn bị bằng cách cho 2 mL dung dịch ABTS 7 mM và 2 mL dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM. Ủ dung dịch trong bóng tối 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol (khoảng 50 lần), điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước

sóng 734 nm có mật độ quang là $0,7 \pm 0,05$. Tiến hành khảo sát hoạt động trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} bằng cách cho 990 μ L ABTS^{•+} vào 10 μ L cao chiết lá methanol Vọng Cách (ở các nồng độ: 5, 10, 15, 20, 30, 40 và 50 μ g/mL). Hỗn hợp phản ứng được ủ trong thời gian 6 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Chất đối chứng dương được sử dụng là trolox ở các nồng độ khảo sát: 2, 4, 6, 8, 10 và 15 μ g/mL.

Khảo sát năng lực khử sắt

Năng lực khử sắt của cao chiết methanol lá Vọng Cách được thực hiện theo phương pháp Oyaizu (1986) và Padma *et al.* (2013). Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 0,5 mL cao chiết methanol lá Vọng Cách ở các nồng độ khảo sát (50, 100, 150, 200, 300, 400 và 500 μ g/mL), 0,5 mL đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,6) và 0,5 mL K₃Fe(CN)₆ 1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 0,5 mL CCl₃COOH 10% rồi ly tâm 3000 vòng/ phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được rút 0,5 mL cho vào 0,5 mL nước và 0,1 mL FeCl₃ 0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm. Butylated hydroxyanisole (BHA) được sử dụng như chất đối chứng dương được khảo sát ở các nồng độ: 0, 10, 20, 40, 60, 80 và 100 μ g/mL.

2.2.3 Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Khả năng kháng khuẩn của cao chiết methanol lá Vọng Cách được xác định dựa trên sự hình thành vòng vô khuẩn xung quanh giếng thạch nhỏ cao chiết. Dịch vi khuẩn với mật số 10⁶ CFU/mL được trải đều trên bề mặt đĩa thạch LB với thể tích dịch khuẩn là 100 μ L. Tiến hành đục lỗ tạo giếng thạch và nhỏ vào giếng thạch 50 μ L cao chiết lá Vọng Cách ở các nồng độ: 8, 16, 32, 64 và 128 μ g/mL. Đường kính vòng vô khuẩn được đo bằng thước đo đơn vị millimeter (mm) sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 32°C.

2.2.4 Khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro

Khả năng kháng viêm của cao chiết methanol lá Vọng Cách được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein theo phương pháp của Elias and Rao (1988) có hiệu chỉnh. Cao chiết methanol lá Vọng Cách được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO) và pha loãng với dung dịch đệm phosphate (0,2 M; pH = 7,4). Nồng độ cuối cùng của DMSO trong tất cả các dung dịch nhỏ hơn 2,5%. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL cao chiết methanol lá Vọng Cách (ở các nồng độ: 0,78125; 1,5625; 3,125 và 6,25 μ g/mL) được trộn với 1 mL dung dịch BSA 5%. Sau đó, hỗn hợp được ủ ở 27°C trong 15 phút. Sự biến tính protein được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 60°C trong 10 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 660

nm. Diclofenac và prednisolon được sử dụng như đối chứng dương. Khả năng ức chế sự biến tính protein của cao chiết methanol lá Vọng Cách được xác định theo công thức sau: % Ức chế = 100 (1 - Vt/Vc). Trong đó, Vt: mật độ quang của mẫu thử có chứa cao chiết hoặc thuốc chuẩn, Vc: mật độ quang của mẫu chứa đệm phosphate.

2.2.5 Định lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần

Định lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp Singleton *et al.* (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 μ L cao chiết methanol lá Vọng Cách trong 250 μ L nước và 250 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều. Sau đó, thêm vào 250 μ L Na₂CO₃ 10% rồi ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng polyphenol tổng trong cao chiết methanol lá Vọng Cách được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

Phương pháp định lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo Bag *et al.* (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL cao chiết methanol lá Vọng Cách ở nồng độ khảo sát pha trong 1 mL nước rồi lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 200 μ L NaNO₂ 5% để yên 5 phút tiếp tục thêm 200 μ L AlCl₃ 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 2 mL NaOH 1 M và nước cho đủ 5 mL. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các cao chiết methanol lá Vọng Cách được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin.

2.2.6 Thống kê phân tích số liệu

Số liệu được phân tích và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16. Các biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

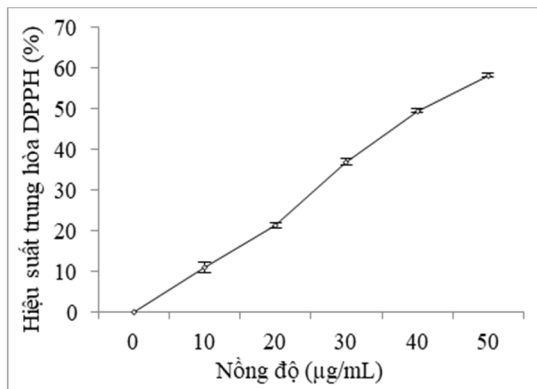
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hóa

Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH

Kết quả cho thấy, hiệu suất loại bỏ gốc tự do DPPH của cao chiết methanol lá Vọng Cách tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết, khi nồng độ cao chiết tăng từ 10 μ g/mL đến 50 μ g/mL thì hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ $10,98 \pm 1,23\%$ đến $57,99 \pm 0,46\%$ (Hình 1). So với một loài thực vật cùng chi là *Premna latifolia* đã được khảo sát hoạt

tính trung hòa gốc tự do DPPH (Krishnamoorthi and Ratha, 2015). Kết quả cho thấy, loài *Premna latifolia* có thể trung hòa 57,03±0,54% gốc tự do DPPH tại nồng độ khảo sát cao nhất là 75 µg/mL. Trong khi đó, cao chiết methanol lá Vọng Cách tại nồng độ 50 µg/mL đã có thể trung hòa được 57,99±0,46%.



Hình 1: Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết methanol lá Vọng Cách

Hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS⁺

Kết quả cho thấy hiệu suất loại bỏ gốc tự do của cao chiết methanol lá Vọng Cách tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết, khi nồng độ cao tăng từ 5 µg/mL đến 30 µg/mL thì hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ 8,85±0,53% đến 77,38±0,69% (Bảng 1). Hàm lượng chất kháng oxi hóa tăng từ 1,11±0,04 µg/mL trolox ở nồng độ 5 µg/mL đến 5,78±0,03 µg/mL trolox ở nồng độ 30 µg/mL.

Bảng 1: Hoạt tính trung hòa gốc tự do ABTS⁺ của cao chiết methanol lá Vọng Cách

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Hiệu suất hấp thu gốc tự do ABTS ⁺ (%)	Hàm lượng chất kháng oxi hóa tương đương µg/mL trolox
5	8,85 ^c ±0,53	1,11 ^c ±0,04
10	23,15 ^d ±0,98	2,08 ^d ±0,07
15	34,17 ^c ±1,64	2,83 ^c ±0,13
20	67,63 ^b ±1,44	3,75 ^b ±0,12
30	77,38 ^a ±0,69	5,78 ^a ±0,03

Ghi chú: Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Hiệu quả kháng oxi hóa dựa trên năng lực khử sắt

Hiệu quả kháng oxi hóa của cao chiết methanol lá Vọng Cách dựa trên năng lực khử sắt được tính tương đương µg/mL BHA. Kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2: Hàm lượng chất kháng oxi hóa có trong cao chiết methanol lá Vọng Cách

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Hàm lượng chất kháng oxi hóa tương đương µg/mL BHA
50	2,43 ^g ±0,41
100	10,10 ^f ±0,61
150	21,43 ^e ±2,79
200	30,43 ^d ±1,70
300	45,10 ^c ±0,52
400	68,08 ^b ±2,95
500	76,97 ^a ±3,60

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Kết quả trình bày ở Bảng 2 cho thấy, năng lực khử sắt tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết, hàm lượng chất kháng oxi hóa trong cao chiết methanol lá Vọng Cách tương đương µg/mL BHA tăng từ 2,43±0,41 µg/mL đến 76,97±3,60 µg/mL tương ứng với nồng độ cao chiết methanol lá Vọng Cách tăng từ 50 µg/mL đến 500 µg/mL.

So sánh hiệu quả kháng oxi hóa của cao chiết methanol lá Vọng Cách với chất chuẩn

Thông qua việc xác định giá trị EC₅₀ của cao chiết methanol lá Vọng Cách với từng phương pháp và so sánh với các chất chuẩn là vitamin C, trolox hay BHA có thể đánh giá được khả năng kháng oxi hóa của cao chiết methanol lá Vọng Cách. Giá trị EC₅₀ hay OD_{0,5} của cao chiết methanol lá Vọng Cách so với chất chuẩn ở các phương pháp khác nhau được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3: Giá trị EC₅₀ (OD_{0,5}) của các phương pháp kháng oxi hóa

Mẫu thử	Phương pháp khảo sát (EC ₅₀ hay OD _{0,5})		
	DPPH	ABTS ⁺	Năng lực khử
Lá Vọng Cách	42,16 ^a ±1,56	20,33 ^a ±0,15	86,30 ^a ±1,54
Chất chuẩn*	4,33 ^b ±0,68	3,72 ^b ±0,21	5,92 ^b ±0,15

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5%. * lần lượt là vitamin C, trolox và BHA trong các phương pháp DPPH, ABTS⁺ và khử sắt

Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết methanol lá Vọng Cách được so sánh với chất chuẩn là vitamin C. Kết quả cho thấy, cao chiết methanol lá Vọng Cách (EC₅₀ = 42,16 µg/mL) trung

hòa gốc tự do DPPH kém hơn vitamin C ($EC_{50} = 4,33 \mu\text{g/mL}$) là 9,74 lần.

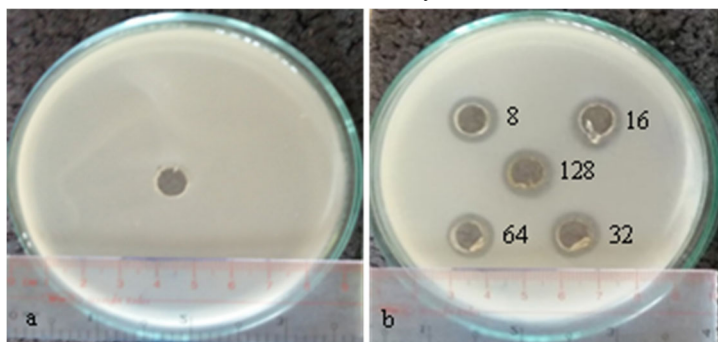
Khả năng trung hòa gốc tự do $ABTS^{+}$ của cao chiết methanol lá Vọng Cách ($EC_{50} = 20,33 \pm 0,15 \mu\text{g/mL}$) được so sánh với chất chuẩn là trolox thấp hơn so với trolox ($EC_{50} = 3,72 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$) là 5,47 lần.

Hiệu quả kháng oxi hóa của cao chiết methanol lá Vọng Cách theo năng lực khử sắt ở các nồng độ khác nhau được so sánh với chất chuẩn BHA bằng cách sử dụng nồng độ mà tại đó chất chuẩn hay cao chiết ($\mu\text{g/mL}$) có giá trị $OD = 0,5$ ($OD_{0,5}$). Năng lực

khử sắt của cao chiết methanol lá Vọng Cách ($OD_{0,5} = 86,30 \pm 1,54 \mu\text{g/mL}$) thấp hơn BHA ($OD_{0,5} = 5,92 \pm 0,15 \mu\text{g/mL}$) là 14,58 lần. Nhìn chung, cao chiết methanol lá Vọng Cách đều có khả năng kháng oxi hóa kém hơn các chất chuẩn.

3.2 Kết quả về khả năng kháng khuẩn

Dimethyl sulfoxide (DMSO) 1% được dùng làm dung môi để pha loãng cao chiết nên được khảo sát hoạt tính kháng khuẩn tương tự như cao chiết. Kết quả cho thấy, DMSO 1% không có khả năng ức chế vi khuẩn thử nghiệm. Ảnh hưởng của DMSO 1% và cao chiết đến sự phát triển của vi khuẩn được trình bày ở Hình 2.



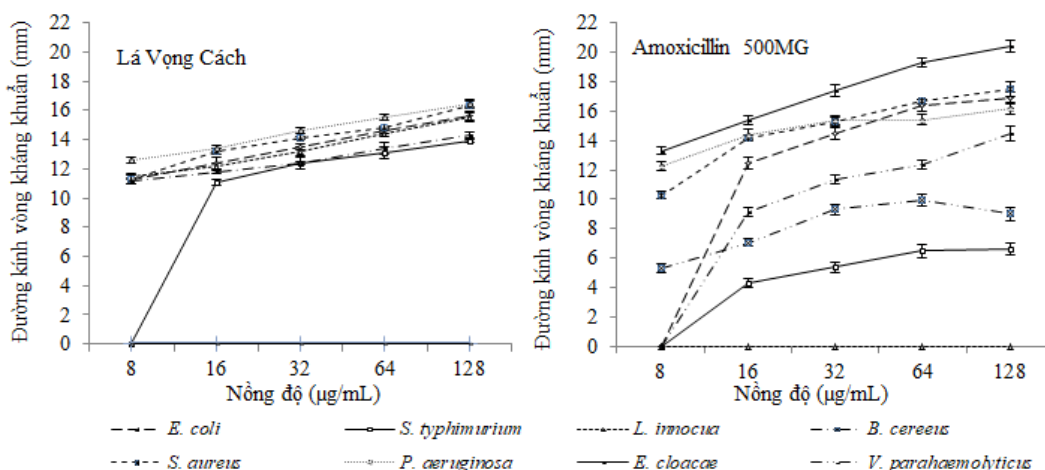
Hình 2: Ảnh hưởng của DMSO 1% và cao chiết lên sự phát triển của vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Chú thích: Vòng kháng khuẩn không xuất hiện khi sử dụng DMSO 1% (a)

Vòng kháng khuẩn do cao chiết methanol lá Vọng Cách ở các nồng độ 8, 16, 32, 64 và 128 $\mu\text{g/mL}$ (b)

Khả năng kháng khuẩn của cao chiết methanol lá Vọng Cách và kháng sinh amoxicillin đối với 8 dòng vi khuẩn: *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. innocua*, *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae* và *V. parahaemolyticus* được xác định dựa trên khả năng

ức chế sự phát triển của các dòng vi khuẩn thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn xung quanh giếng thạch tạo ra trên đĩa petri được trình bày ở Hình 3.



Hình 3: Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết methanol lá Vọng Cách và kháng sinh amoxicillin

Kết quả trình bày ở Hình 3 cho thấy, cao chiết methanol lá Vọng Cách có khả năng ức chế đối với 6 dòng vi khuẩn: *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. innocua*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* và *V. parahaemolyticus* đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra ở nồng độ cao chiết khảo sát rất thấp, khi nồng độ cao chiết càng tăng thì đường kính vòng vô khuẩn càng tăng. Đồng thời, sự thay đổi kích thước vòng kháng khuẩn khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các nồng độ được khảo sát. Do đó, khi tăng nồng độ cao chiết methanol lá Vọng Cách lên cao hơn có thể sẽ tạo ra các vòng kháng khuẩn có đường kính còn lớn hơn nữa. Trong 8 dòng vi khuẩn bị ức chế, cao chiết methanol lá Vọng Cách cho hiệu quả ức chế vi khuẩn *P. aeruginosa* cao nhất, tạo được vòng kháng khuẩn lớn nhất ở tất cả các nồng độ so với các dòng vi khuẩn khác. Trong một nghiên cứu khác, cao chiết vỏ thân và gỗ của cây Vọng Cách được chiết từ các dung môi hexane, chloroform, ethyl acetate và ethanol đã được nghiên cứu có hoạt tính kháng nhiều dòng vi khuẩn và nấm gồm *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *P. aeruginosa*, *V. cholera*, *A. flavus*, *A. niger*, *P. notatum* và *C. albicans* ở nồng độ cao chiết 200 µg/mL với đường kính vòng kháng khuẩn và kháng nấm trong khoảng từ 9 đến 23 mm (Rajendran, 2010). Tuy nhiên, cao chiết methanol lá Vọng Cách không có khả năng kháng vi khuẩn *B. cereus* và *E. cloacae* (vẫn có vòng kháng khuẩn nhưng khuẩn lạc phát triển khắp vòng).

Trong khi, cao chiết methanol lá Vọng Cách có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn *L. innocua* cho đường kính vòng kháng khuẩn tăng từ 11,50±0,20 mm tại nồng độ 8 µg/mL lên 15,50±0,30 mm tại nồng độ 128 µg/mL thì kháng sinh thương mại amoxicillin không thể ức chế dòng vi khuẩn này trong dãy nồng độ khảo sát. Cao chiết methanol lá Vọng Cách (MIC≤8 µg/mL) có hiệu quả ức chế dòng vi khuẩn *E. coli* và *V. parahaemolyticus* mạnh hơn kháng sinh thương mại amoxicillin (MIC≤16 µg/mL). Ngoài ra, đường kính vòng kháng vi khuẩn *S. typhimurium* của cao chiết methanol lá Vọng Cách tại nồng độ 128 µg/mL cũng lớn hơn kháng sinh thương mại amoxicillin 2,10 lần. Tuy nhiên, kháng sinh thương mại amoxicillin vẫn có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. cereus* và *E. cloaca*. Đồng thời, kết quả nghiên cứu cho thấy rằng cao chiết methanol lá Vọng Cách sở hữu một phổ kháng khuẩn rộng.

3.3 Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro

Kết quả cho thấy khả năng ức chế sự biến tính protein của cao chiết methanol lá Vọng Cách yếu hơn chất chuẩn diclofenac và prednisolon. Khả năng ức chế sự biến tính protein của cao chiết methanol lá Vọng Cách tỉ lệ thuận với nồng độ, tăng từ 18,62±3,84% ở nồng độ 0,78125 µg/mL lên 62,87±6,17% ở nồng độ 6,25 µg/mL và giá trị IC₅₀ yếu hơn diclofenac và prednisolon khoảng 7,6 và 11,1 lần.

Bảng 4: Hiệu suất ức chế sự biến tính BSA của cao chiết và các chất chuẩn

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Hiệu suất ức chế sự biến tính BSA (%)		
	Lá Vọng cách	Diclofenac	Prednisolon
0,78125	18,62 ^d ±3,84	48,12 ^d ±1,53	49,64 ^d ±1,53
1,5625	32,35 ^c ±3,18	58,65 ^c ±0,61	60,94 ^c ±0,67
3,125	45,07 ^b ±4,04	68,11 ^b ±1,46	69,53 ^b ±0,23
6,25	62,87 ^a ±6,17	84,54 ^a ±0,23	89,32 ^a ±1,53
IC ₅₀ (µg/mL)	4,33±0,52	0,57±0,21	0,39±0,17

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái theo sau khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.4 Kết quả định lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần

Hàm lượng polyphenol tổng của lá Vọng Cách là 59,55±0,22 mgGAE/g cao chiết và hàm lượng flavonoid toàn phần là 609,62±15,21 mg QE/g cao chiết. Một nghiên cứu khác đã xác định hàm lượng polyphenol trong vỏ thân của 2 loài thực vật *Premna corymbosa*, *Premna mucronata* lần lượt là 56,01±0,10 mg GAE/g và 28,04±0,10 mg GAE/g. Đồng thời, hàm lượng flavonoid trong vỏ thân của 2 loài thực vật *Premna corymbosa*, *Premna mucronata* lần lượt là 75,12±9,74 mg QE/g và 27,89±14,40 mg QE/g (Lalita et al., 2014). Kết quả nghiên cứu này cho thấy rằng, lá cây Vọng Cách có

chứa hàm lượng polyphenol và flavonoid cao hơn so với các bộ phận khác một số loài thực vật cùng chi. Đây cũng có thể là lý do cao chiết lá thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa, kháng khuẩn và kháng viêm khá tốt.

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy, cao chiết methanol lá Vọng Cách thể hiện các hoạt tính kháng oxi hóa, kháng viêm và kháng khuẩn khá tốt. Sự biểu hiện các hoạt tính này có thể là do cao chiết lá có chứa nhiều hợp chất tự nhiên có tác dụng sinh học cao như polyphenol và flavonoid. Các nghiên cứu tiếp theo về thành phần hóa học của cao chiết đang

được tiếp tục để xác định hợp chất gây ra hoạt tính trên.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ chính phủ Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bag, G.C., Devi, P.G. and Bhaigyabati, T., 2015. Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of manipur valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 30(1): 154-159.
- Elias, G. and Rao, M.N.A., 1988. Inhibition of albumin denaturation and antiinflammatory activity of dehydrozingerone and its analogs. *Indian Journal of Experimental Biology*. 26(7): 540-542.
- Krishnamoorthi, R. and Ratha, B.V., 2015. Phytochemical analysis and antioxidant property of *Premna latifolia*. *International Journal of Pharmacognosy*. 2(8): 414-418.
- Lalita, S., Timalsona, S., Duwadi, P., Thapa, R., Paudel, A. and Parajuli, K., 2014. Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal plants from Western Nepal. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 34(5): 584-590.
- Lee, J., Koo, N. and Min, D.B., 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 3(1): 21-33.
- Mali, P.Y. and Bhadane, V.V., 2010. Comparative account of screening of bioactive ingredients of *Premna integrifolia* Linn. with special reference to root by using various solvents. *Journal of Pharmacy Research*. 3(7): 1677-1679.
- Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Xuất bản lần thứ 1. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh. Tp. Hồ Chí Minh. 528 trang
- Nguyen, Q.V. and Eun, J.B., 2011. Antioxidant activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(13): 2798-2811.
- Nikolaos, N., Wang, L.F., Tsimidou, M. and Zhang, H.Y., 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(15): 4669-4674.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44(6): 307-315.
- Padma R., Parvathy N.G., Renjith V. and Kalpana P. R., 2013. Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrical*. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 4(1):73-77.
- Phạm Hoàng Hộ, 2003. Cây cỏ Việt Nam (Quyển II). Nhà xuất bản trẻ. 820 trang.
- Rajendra, R., 2010. Antimicrobial activity of different bark and wood of *Premna serratifolia* Linn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1(1): 1-9.
- Rajendran, R., Suseela, L., Meenakshi, S.R. and Saleem, B.N., 2008. Cardiac stimulant activity of bark and wood of *Premna serratifolia*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 3(2): 107-113.
- Sharma, O.P. and Bhat, T.K., 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*. 113(4) 1202-1205.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*. 299C(1): 152-178.
- Wu, Y.Y., Li, W., Xu, Y., Jin, E.H. and Tu, Y.Y., 2011. Evaluation of the antioxidant effects of four main theaflavin derivatives through chemiluminescence and DNA damage analyses. *Journal of Zhejiang University Science B*. 12(9): 744-751.
- Yadav, D., Tiwari, N. and Gupta, M.M., 2011. Simultaneous quantification of diterpenoids in *Premna integrifolia* using a validated HPTLC method. *Journal of Separation Science*. 34(3): 286-291.