

DOI:10.22144/ctujos.2024.299

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÂY XUYÊN TÂM LIÊN (*Andrographis paniculata*)

Nguyễn Văn Ấy^{1*}, Trần Nguyễn Phương Lam² và Trần Nguyễn Phương Nguyễn³¹Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ²Lớp Cao học Khoa học Cây trồng K28, Trường Đại học Cần Thơ³Lớp Sinh học Ứng dụng K47, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): nvay@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 27/10/2023

Sửa bài (Revised): 17/11/2023

Duyệt đăng (Accepted): 30/05/2024

Title: Comparative studies on some of phytochemical contents and bioactivities of methanolic extract from *Andrographis paniculata* plant

Author(s): Nguyen Van Ay*, Tran Nguyen Phuong Lam and Tran Nguyen Phuong Nguyen

Affiliation(s): Can Tho University

TÓM TẮT

Cây Xuyên tâm liên được xem là vua của đắng, một loại cây thân thảo hàng năm thuộc họ Acanthaceae, được trồng rộng rãi ở Nam và Đông Nam Á. Xuyên tâm liên là phương thuốc để điều trị nhiễm trùng do vi khuẩn, cảm lạnh thông thường, tiêu chảy và đồng thời bổ cho gan. Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra độ tuổi thu hoạch thích hợp cho Xuyên tâm liên. Đồng thời khảo sát khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn của cao chiết Xuyên tâm liên. Kết quả cho thấy trong giai đoạn cây ra hoa có hàm lượng quercetine và caffeine tổng số cao nhất (lần lượt là 119,18 và 16,71 mg/g trọng lượng khô) trong khi hàm lượng andrographolide tổng số ở giai đoạn cây già có giá trị cao nhất là 0,99 mg/g TLK. Cao chiết từ cây Xuyên tâm liên cho thấy khả năng trung hòa gốc tự do DPPH với EC₅₀ = 627,925 µg/mL và khả năng khử sắt với EC₅₀ = 163,898 µg/mL. Ngoài ra, cao chiết cũng cho thấy khả năng kháng các chủng vi sinh vật *Bacillus cereus* ATCC10876, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria innocua* ATCC33090, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922 với nồng độ ức chế tối thiểu dao động khoảng 16 - 32 mg/mL.

Từ khóa: Cây Xuyên tâm liên, dược chất, hoạt tính sinh học, kỹ thuật sắc ký lỏng cao áp

ABSTRACT

Andrographis paniculata popularly known as the King of bitters, is an annual herbaceous plant in the Acanthaceae family, and widely cultivated in Southern and Southeastern Asia. *Andrographis paniculata* has been believed to be a treatment for bacterial infections, common cold, diarrhea and a health tonic for the liver. The study was conducted to determine the appropriate harvest age for *Andrographis paniculata*. At the same time, the antioxidant and antibacterial properties of *Andrographis paniculata* extract were also investigated. The results showed that the flowering stage had the highest total of quercetine and caffeine contents (119.18 and 16.71 mg.g⁻¹ DW, respectively) while the highest total content of andrographolide was found in the fruiting stage (0.99 mg.g⁻¹ DW). The antioxidant capacity was investigated based on the ability to neutralize DPPH free radicals (EC₅₀= 627,925 µg/mL) and reduce iron (EC₅₀= 163,898 µg/mL). At the same time, the ethanolic extract also showed the inhibition to microbial strains *Bacillus cereus* ATCC10876, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria innocua* ATCC33090, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922 with minimum inhibitory concentration (MIC) in the range from 16 to 32 mg/mL.

Keywords: *Andrographis paniculata*, medicinal substances, bioactivities, HPLC

1. GIỚI THIỆU

Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*) còn được gọi là cây lá đắng, là một loài cây thảo thuộc họ Ô rô (Acanthaceae), có nguồn gốc từ Ấn Độ và Sri Lanka. Ở Việt Nam, loài cây này được tìm thấy nhiều ở vùng Thất Sơn của tỉnh An Giang (Hộ, 2003). Cây được sử dụng như bài thuốc dân gian vì có nhiều tác dụng dược lý quan trọng. Ngoài các thành phần cơ bản của thực vật, cây Xuyên tâm liên còn chứa các dược chất quan trọng như terpenoids, glycoside, lactones, flavonoid cũng như các nguyên tố khoáng đa và vi lượng. Trong số đó, terpenoids được xem là có vai trò chống ung thư, chống oxy hóa, chống đái tháo đường, hạ đường huyết (Akihisa et al., 2007). Ngoài ra, nhóm phenolic là hợp chất chống oxy hóa, ngăn ngừa các quá trình gây bệnh liên quan đến não, ung thư, tiểu đường, viêm khớp, tim mạch (Bajpai et al., 2005). Hiện nay, cây xuyên tâm liên được xem như một loại kháng sinh thực vật và được sử dụng để điều trị các chứng bệnh viêm nhiễm, cảm cúm thông thường..., là phương thuốc rất kinh điển trong những năm đất nước còn nghèo khó, từng dùng để chữa bách bệnh.

Hoạt chất andrographolide, caffeine và quercetine là những thành phần chính có trong cây Xuyên tâm liên. Tuy nhiên, sự tích lũy hàm lượng các chất này cũng như các chất thứ cấp trong cây sẽ tùy thuộc vào nhiều yếu tố như độ tuổi, thời điểm thu hoạch, điều kiện canh tác... Do đó, việc khảo sát hàm lượng các hoạt chất này trong cây Xuyên tâm liên theo độ tuổi thu hoạch có thể tìm ra thời điểm thu hoạch thích hợp. Đồng thời việc đánh giá khả năng kháng một số chủng vi khuẩn gây bệnh và khả năng kháng oxy hóa cũng giúp cho giá trị dược liệu của Xuyên tâm liên đáng tin cậy và được ứng dụng nhiều hơn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và thiết bị

Mẫu cây Xuyên tâm liên được trồng tại Nhà lưới của Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Hệ sắc ký lỏng cao áp (HPLC, Shimadzu, model LC-2030 Plus), máy ly tâm Rotina 35, cô quay chân không Laborota L4000...

Vi khuẩn: *Bacillus cereus* ATCC10876, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria innocua* ATCC33090, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922.

2.2. Hóa chất

Hoá chất dùng trong định lượng các hợp chất: andrographolide, quercetin, methanol, acetonitrile, acid acetic... (Merck).

Hóa chất dùng trong khảo sát hoạt tính sinh học: DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), gallic acid, methanol, Na₂HPO₄.12H₂O, NaH₂PO₄.2H₂O, K₃Fe(CN)₆, Cl₃CCOOH, FeCl₃, NaCl, pepton, yeast extract... (Merck).

2.3. Ảnh hưởng của độ tuổi đến hàm lượng một số dược chất trong cây Xuyên tâm liên

2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố, gồm 3 nghiệm thức: cây trưởng thành (110 ngày); cây ra hoa (130 ngày) và cây già (170 ngày). Mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 5 chậu, mỗi chậu trồng 2 cây.

Chỉ tiêu phân tích: hàm lượng các hoạt chất andrographolid, quercetine và caffeine.

2.3.2. Chuẩn bị mẫu

Cân 0,1g bột khô Xuyên tâm liên cho vào ống nghiệm rồi thêm 5 mL methanol (HPLC Grade) và siêu âm mẫu trong 30 phút. Sau đó ly tâm trong 10 phút (4000 vòng/phút). Thu phần dung dịch phía trên và lọc qua màng nylon 0,45 µm (Membrane Solutions). Dung dịch sau khi thu được dùng để phân tích hàm lượng các chất bằng kỹ thuật HPLC theo phương pháp của Pholphana et al. (2013) có hiệu chỉnh.

2.3.3. Quy trình phân tích bằng kỹ thuật HPLC

Các dung dịch chất chuẩn được pha thành các dung dịch riêng biệt:

- Quercetine có nồng độ: 0; 62,5; 125; 250; 500; 750; 1000 mg/L.
- Caffeine có nồng độ: 0; 62,5; 125; 250 mg/L.
- Andrographolid có nồng độ 0; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 mg/L.

Hệ HPLC (Model LC-2030 Plus): Sử dụng cột Supelco C18 với chiều dài 25 cm, đường kính trong 4,6 mm và kích thước hạt 5 µm. Pha tĩnh là silicagel. Tùy theo các chất phân tích sẽ có pha động khác nhau. Đầu dò UV.

Hàm lượng quercetine: sử dụng pha động là acetonitril và acid acetic 2% (tỷ lệ 40:60). Bước sóng: 370 nm. Tốc độ dòng: 1,3 mL/phút. Nhiệt độ cột: 35°C. Thể tích tiêm: 15 µL (Ang et al., 2014).

Hàm lượng caffeine: sử dụng pha động là methanol và nước (tỷ lệ 40:60). Bước sóng: 275 nm. Tốc độ dòng: 1 mL/phút. Nhiệt độ cột: 40°C. Thể tích tiêm: 10 µL (Pokhrel *et al.*, 2016).

Hàm lượng andrographolide: Pha động là acetonitril 28% và nước 72%. Bước sóng λ = 205 nm. Tốc độ dòng: 1,2 mL/phút. Nhiệt độ cột: 25°C. Thể tích tiêm: 20 µL (Pholphana *et al.*, 2013).

Mẫu thí nghiệm có 3 lần lặp. Sau khi phân tích tiến hành ghi nhận, xử lý kết quả và vẽ đường chuẩn để xác định hàm lượng các chất có trong mẫu Xuyên tâm liên.

2.4. Khả năng hoạt tính sinh học của cao chiết

2.4.1. Chuẩn bị cao chiết

Bột Xuyên tâm liên được cân 50g cho vào các bình tam giác 500 mL, thêm methanol 100% (tỷ lệ methanol : bột thô là 10:1). Mẫu ngâm được ủ tối ở nhiệt độ phòng trong 15 ngày (kết hợp với siêu âm 30 phút/ngày). Hỗn hợp sau khi lọc được cô quay chân không ở nhiệt độ 40°C. Cao trích được thu và bảo quản ở -20°C để tiến hành thí nghiệm.

2.4.2. Khảo sát khả năng trung hòa gốc tự do DPPH

Acid gallic có nồng độ từ 1 đến 10 µg/mL, để xây dựng đường chuẩn. Đối với cao chiết dây nồng độ được sử dụng là 500, 750, 1000, 1250 và 1500 µg/mL.

Mẫu thử: Tiến hành hút 500 µL dung dịch DPPH 0,024% vào các eppendorf, sau đó cho thêm 500 µL dung dịch acid gallic (nồng độ từ 1 - 10 µg/mL). Ủ trong tối 30 phút và đo OD ở bước sóng 517 nm. Thí nghiệm gồm 3 lần lặp lại tương ứng với 10 nồng độ khác nhau. Kết quả đo OD được ghi nhận, tính toán và vẽ đường chuẩn; xây dựng đường chuẩn với phần trăm ức chế DPPH thu được ở các nồng độ khác nhau; từ đó, tính toán giá trị EC₅₀ (nồng độ cao chiết và acid gallic). Phần trăm DPPH bị ức chế được tính theo công thức sau (Mishra *et al.*, 2012):

$$EC (\%) = \frac{A_{blank} - A_{mẫu}}{A_{blank}} \times 100$$

Trong đó: EC là khả năng ức chế DPPH (%); Ablank: Giá trị mật độ quang của mẫu trắng; Amẫu: Giá trị mật độ quang của mẫu cao chiết.

2.4.2. Khảo sát khả năng khử sắt

Dung dịch đệm phosphate được pha theo tỉ lệ: 62,5 mL dung dịch Na₂HPO₄ 0,2M và 37,5 mL dung dịch NaH₂PO₄ 0,2M, điều chỉnh pH đạt 6,6.

Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn, có nồng độ lần lượt là 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 µg/mL để xây dựng đường chuẩn. Đối với cao chiết dây nồng độ được sử dụng là 200, 400, 600, 800 và 1000 µg/mL.

Mẫu thử: Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 mL chất đối chứng acid gallic trong methanol; 0,5 mL đệm phosphate 0,2M pH 6,6 và 0,5 mL K₃Fe(CN)₆ 1% trong ống nghiệm. Ủ ở 50°C trong 20 phút. Sau đó cho thêm 0,4 mL Cl₃CCOOH 10% rồi ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 10 phút. Nhẹ nhàng lấy 0,5 mL ở lớp trên, thêm 0,5 mL nước cất và 0,1 mL FeCl₃ 0,1% vào eppendorf, lắc đều, mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm, ghi nhận kết quả, tính toán và vẽ đường chuẩn. Đối với mẫu cao trích, tiến hành tương tự như đường chuẩn. Thí nghiệm lặp lại 3 lần. Ghi nhận kết quả đo OD, tính toán và vẽ đường chuẩn. Xây dựng đường chuẩn với phần trăm ức chế DPPH thu được ở các nồng độ khác nhau. Mẫu trắng: Được thực hiện tương tự, thay 0,5 mL mẫu thử nghiệm bằng 0,5 mL methanol. Phần trăm khử sắt được tính như sau:

$$EC (\%) = \frac{A_{mẫu} - A_{blank}}{A_{blank}} \times 100$$

Trong đó: EC: Khả năng khử sắt (%); A_{blank}: Giá trị mật độ quang của mẫu trắng; A_{mẫu}: Giá trị mật độ quang của mẫu cao chiết.

2.4.4. Khảo sát khả năng kháng khuẩn

Quy trình kháng khuẩn được thực hiện dựa trên phương pháp của Trang (2019) có hiệu chỉnh. Môi trường nuôi cấy vi sinh vật là môi trường LB Broth powder (pH = 7,2). Môi trường và đĩa petri được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút. Thí nghiệm được thực hiện trên 5 loài vi khuẩn *B. cereus* ATCC10876, *S. aureus* ATCC25923, *L. innocua* ATCC33090, *P. aeruginosa* ATCC27853 và *E. coli* ATCC25922. Đối chứng: (+) kháng sinh Profloxacin nồng độ 16 µg/mL; (-) DMSO 1%.

Mẫu thí nghiệm: Dây nồng độ cao chiết là 16, 32, 64, 128 và 256 mg/mL.

Tiến hành thí nghiệm kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Các đĩa khuẩn thí nghiệm sẽ được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Tiến hành lấy chỉ tiêu và tính toán kết quả. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.5. Xử lý số liệu

Các số liệu thực nghiệm được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel 2010 và phân tích thống kê số liệu ANOVA, so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình kiểm định bằng phép kiểm định

DUNCAN ở mức ý nghĩa 1% trên phần mềm SPSS 21.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

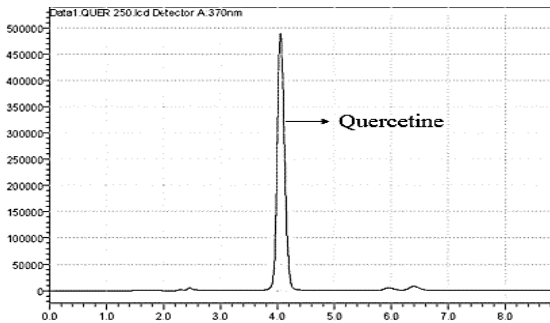
3.1. Xây dựng đường chuẩn của các hoạt chất khảo sát

Hàm lượng của quercetine; andrographolide và caffeine trong cây Xuyên tâm liên được xác định bằng kỹ thuật HPLC thông qua việc xây dựng 3 đường chuẩn andrographolide, quercetine và caffeine tương ứng. Việc xây dựng đường chuẩn nhằm để xác định thời gian lưu hay được gọi là thời gian các chất trên tách ra khi thực hiện sắc ký để tách các chất ra khỏi hỗn hợp từ mẫu phân tích. Phổ die6n56 và thời gian lưu các chất lần lượt là: quercetine tại 4,0 phút (Hình 1); andrographolide tại 12,7 phút (Hình 2) và caffeine 2,8 phút (Hình 3). Từ đó suy ra phương trình hồi quy tuyến tính của các chất này như sau:

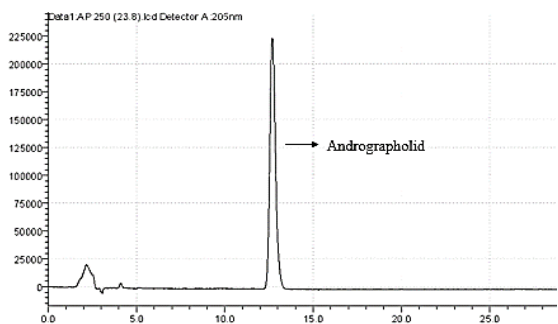
Quercetine: $y = 18106x - 40610$ ($R^2 = 0,9998$).

Andrographolide: $y = 34121x - 163170$ ($R^2 = 0,9987$).

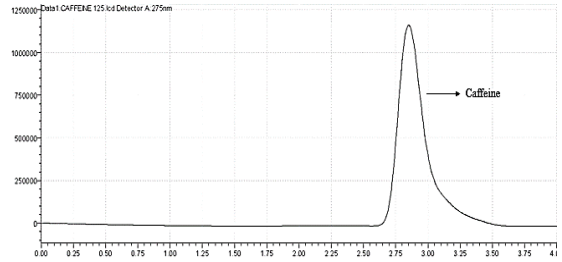
Caffeine: $y = 136716x + 2.10^6$ ($R^2 = 0,9812$).



Hình 1. Phổ điện của quercetine chuẩn



Hình 2. Phổ điện của andrographolide chuẩn



Hình 3. Phổ điện của caffeine chuẩn

3.2. Ảnh hưởng của độ tuổi đến hàm lượng hợp chất thực vật trong Xuyên tâm liên

Thí nghiệm được thực hiện nhằm tìm ra độ tuổi thu hoạch thích hợp của Xuyên tâm liên mà tại thời điểm đó hàm lượng các hợp chất thực vật được tối ưu nhất. Kết quả định lượng 3 hợp chất thực vật gồm andrographolide, quercetine và caffeine bằng phương pháp HPLC được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của độ tuổi đến hàm lượng hợp chất thực vật trong Xuyên tâm liên

Độ tuổi của cây	Hợp chất thực vật (mg/g TLK)		
	Quercetine	Andrographolide	Caffeine
Trường thành	7,44 ^b	0,43 ^b	1,54 ^b
Ra hoa	119,18 ^a	0,55 ^b	16,71 ^a
Già	6,75 ^b	0,99 ^a	2,19 ^b
F	**	**	**
CV (%)	6,66	21,03	7,3

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, **: khác biệt có ý nghĩa 1%.

3.2.1. Hàm lượng quercetine

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy độ tuổi thu hoạch có ảnh hưởng đến hàm lượng quercetine trong cây Xuyên tâm liên. Đối với hàm lượng quercetine, ở giai đoạn ra hoa (119,18 mg/g TLK), hợp chất này chiếm ưu thế hơn so với giai đoạn cây tăng trưởng (7,44 mg/g TLK) hoặc cây già (6,75 mg/g TLK) và có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

3.2.2. Hàm lượng andrographolide

Kết quả thống kê ở Bảng 1 cho thấy hàm lượng andrographolide ở giai đoạn cây già chiếm ưu thế (0,99 mg/g TLK) so với giai đoạn cây trưởng thành (0,43 mg/g TLK) và ra hoa (0,55 mg/g TLK). Khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

3.2.3. Hàm lượng caffeine

Tương tự như hàm lượng nhóm polyphenol, caffeine (nhóm alkaloid) cũng bị tác động bởi các giai đoạn sinh trưởng của Xuyên tâm liên. Kết quả

Bảng 1 cho thấy giai đoạn ra hoa (16,71 mg/g TLK) có hàm lượng caffein cao hơn có phần vượt trội khi so sánh với 2 giai đoạn còn lại (cây trưởng thành: 1,54 mg/g TLK; cây già: 2,19 mg/g TLK), khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

Mỗi loại cây trồng đều có các giai đoạn sinh trưởng và sinh sản riêng biệt, trong quá trình này sẽ xuất hiện những sự biến đổi trong chức năng sinh lý và thành phần sinh hóa của cây trồng. Hàm lượng của các hợp chất biến dưỡng thứ cấp ở thực vật phụ thuộc rất lớn vào giai đoạn sinh trưởng và phát triển của cây (Rao & Ravishankar, 2002). Đối với Xuyên tâm liên, giai đoạn từ sinh trưởng kéo dài khoảng 120-130 ngày tính từ ngày hạt nảy mầm, sau thời gian này là giai đoạn sinh sản (ra hoa, kết trái...). Ở quy mô trồng công nghiệp, cây ở giai đoạn ra hoa được cắt ở góc để lại thân 10-15 cm để cây tái sinh. Khoảng 50 – 60 ngày sau lần thu hoạch đầu tiên, thu hoạch cuối cùng được thực hiện (Mishra et al., 2007). Việc thu hái này ảnh hưởng nhất định đến hàm lượng các dược chất trong cây và cần những nghiên cứu cụ thể về thời điểm thu hoạch phù hợp nhằm khai thác được nguồn dược chất tối ưu nhất. Nghiên cứu về thời điểm thu hoạch phù hợp đối với Xuyên tâm liên cũng đã được tiến hành bởi Bhan et al. (2006) tại phía Bắc Ấn Độ, kết quả cho thấy thời điểm thu hoạch đạt năng suất và hàm lượng các dược chất cao nhất là 100 ngày tuổi. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Sharma and Sharma (2013), khuyến nghị thời điểm thu hoạch tốt nhất là 110-130 ngày tuổi.

Hàm lượng andrographolide cũng thay đổi theo mùa, sinh lý hoặc giai đoạn phát triển và tình trạng dinh dưỡng của cây (Saravanan et al., 2008). Trong nghiên cứu này, kết quả cho thấy hàm lượng andrographolide ở cả 3 giai đoạn đều có sự khác biệt, trong đó hàm lượng andrographolide cao nhất khi cây già (đang mang trái), giai đoạn tăng trưởng lá và ra hoa thì hàm lượng tương đương nhau. Kết quả này tương đồng với nhận định của Pholphana et al. (2013), hàm lượng andrographolide cao nhất được phát hiện trong lá ở giai đoạn cây đang mang trái và giai đoạn sinh dưỡng, hoa của Xuyên tâm liên cũng chứa hàm lượng andrographolide cao. Tuy nhiên, hàm lượng andrographolide trong nghiên cứu ở cả 3 giai đoạn khá thấp so với các nghiên cứu trước đây, điều này có thể ảnh hưởng do giống, điều kiện bố trí ngoài đồng và thời gian lưu trữ mẫu trước khi phân tích. Đối với Xuyên tâm liên, hàm lượng andrographolide cao khi mới thu hái, càng để lâu thì hàm lượng hoạt chất giảm nhanh, tác dụng diệt khuẩn giảm.

Các chất chuyển hóa thứ cấp của thực vật tuy là những hợp chất không có vai trò cơ bản trong việc duy trì sự sống của cây nhưng chúng lại có vai trò nhất định giúp thực vật có thể thích nghi và tự bảo vệ bằng cách tương tác với môi trường. Ở các thực vật bậc cao, việc tổng hợp các hợp chất thực vật từ các chất chuyển hóa chính như carbohydrate, lipid và acid amin sẽ giúp chúng chống lại các động vật ăn cỏ, mầm bệnh và các áp lực môi trường. Ngoài ra, các hợp chất thực vật còn có vai trò quan trọng trong các mục đích dinh dưỡng, mỹ phẩm, đặc biệt là ở lĩnh vực y học vì những tác dụng hiệu quả trong điều trị các bệnh, bổ sung dinh dưỡng... Các hợp chất quercetine và caffeine trong Xuyên tâm liên cũng có khác biệt rõ rệt qua các giai đoạn phát triển của cây. Nhưng nhìn chung ở giai đoạn ra hoa, hàm lượng các hợp chất quercetin và caffeine chiếm ưu thế hơn so với hai giai đoạn còn lại. Hầu hết các nghiên cứu hiện tại về ảnh hưởng của giai đoạn sinh trưởng đến hàm lượng các hợp chất nhóm polyphenol và alkaloid trên Xuyên tâm liên vẫn còn hạn chế, chủ yếu các nghiên cứu này tập trung vào phân tích sự khác biệt về hàm lượng giữa các bộ phận cây. Trong nghiên cứu của Kurzawa et al. (2015) đã xác định được hàm lượng của nhiều hợp chất thuộc nhóm alkaloid trong lá và rễ Xuyên tâm liên, trong đó có caffeine bằng phương pháp LC-MS/MS. Caffeine là chất kích thích thuộc nhóm alkaloid, do đó liều lượng sử dụng cần được nghiên cứu và chú ý, việc xác định hàm caffeine trong Xuyên tâm liên thay đổi theo độ tuổi cây giúp ít cho việc khai thác tiềm năng của hợp chất này trong cây. Đối với nhóm phenolic và flavonoid trong Xuyên tâm liên, kết quả xác định hàm lượng có sự tương đồng với nhận định của Tajidin (2017), 2 nhóm chất này đạt hàm lượng cao nhất vào giai đoạn cây trưởng thành và giảm dần khi Xuyên tâm liên già đi. Do đó, giai đoạn cây ra hoa là độ tuổi phù hợp thu hoạch để đảm bảo được các hợp chất thực trong cây Xuyên tâm liên.

3.3. Khả năng kháng oxy hóa của cao trích Xuyên tâm liên

Khả năng kháng gốc tự do DPPH và khử sắt của cao chiết từ cây Xuyên tâm liên được thể hiện ở Bảng 2. Từ các giá trị EC₅₀ được trình bày trong bảng cho thấy khả năng kháng gốc tự do DPPH và khử sắt của cao chiết khảo sát thấp hơn so với acid gallic. Khả năng kháng gốc tự do DPPH của cao chiết Xuyên tâm liên (EC₅₀ = 627,925 µg/mL) thấp hơn so với acid gallic (EC₅₀ = 6,16 µg/mL) được dùng khảo sát là 101,935 lần. Khả năng khử sắt của cao chiết (EC₅₀ = 163,898 µg/mL) thấp hơn so với

acid gallic ($EC_{50} = 1,79 \mu\text{g/mL}$) được dùng khảo sát là 91,563 lần.

Bảng 2. Giá trị EC_{50} của gallic acid và cao chiết từ cây Xuyên tâm liên

Mẫu	Kháng DPPH ($\mu\text{g/mL}$)	Khử sắt ($\mu\text{g/mL}$)
Gallic acid	6,16(1)	1,79(3)
Cao chiết XTL	627,925(2)	163,898(4)

⁽¹⁾: Giá trị EC_{50} của gallic acid trong phương pháp DPPH được xác định dựa vào phương trình tuyến tính ($y = 7,4428x + 4,1187$; $R^2 = 0,9896$)

⁽²⁾: Giá trị EC_{50} của Xuyên tâm liên trong phương pháp DPPH được xác định dựa vào phương trình tuyến tính ($y = 0,0593x + 12,764$; $R^2 = 0,9119$)

⁽³⁾: Giá trị EC_{50} của gallic acid trong phương pháp khử sắt được xác định dựa vào phương trình tuyến tính ($y = 27,732x + 0,2625$; $R^2 = 0,9957$)

⁽⁴⁾: Giá trị EC_{50} của Xuyên tâm liên trong phương pháp khử sắt được xác định dựa vào phương trình tuyến tính ($y = 0,8927x - 96,312$; $R^2 = 0,9626$)

Qua hai chỉ tiêu khảo sát về khả năng ức chế gốc tự do (DPPH và khử sắt), kết quả cho thấy khả năng kháng gốc oxy hóa của cao chiết Xuyên tâm liên và acid gallic tăng dần theo nồng độ. Theo Hương và Bach (2017), tính kháng oxy hóa của một chất sẽ phụ thuộc vào số lượng gốc nhóm hydroxyl do tác dụng thu dọn các gốc tự do của chúng. Liên kết đôi và nhóm carbonyl sẽ làm tăng hoạt tính kháng oxy hóa do chúng tác động vào khả năng liên hợp các electron bất định, là nguyên nhân tạo nên sự bền vững cho các gốc tự do. Do đó, khi nồng độ chất

chống oxy hóa càng cao, số lượng các gốc nhóm hydroxyl sẽ càng cao, do đó hoạt động khử gốc tự do càng mạnh. Acid gallic là một sản phẩm được thương mại hóa có độ tinh sạch cao, được biết đến với khả năng kháng oxy hóa mạnh nên hiệu quả ức chế gốc tự do cao hơn cao chiết từ cây Xuyên tâm liên. Kết quả cho thấy rằng khả năng ức chế gốc tự do của cao chiết từ cây Xuyên tâm liên thấp hơn acid gallic rất nhiều lần. Đồng thời, với phương pháp chiết tách thủ công, có thể do công đoạn lọc trong quá trình chiết cao, sản phẩm sau lọc chưa được loại bỏ được hết các tạp chất nên cao chiết chưa hoàn toàn tinh sạch.

3.4. Khả năng kháng vi sinh vật của cao chiết Xuyên tâm liên

Khả năng ức chế vi khuẩn của Xuyên tâm liên được khảo sát trong thí nghiệm này bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch với 5 loài vi khuẩn. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3 cho thấy khả năng kháng khuẩn tăng khi nồng độ cao chiết tăng, đường kính vòng kháng khuẩn tỉ lệ thuận với nồng độ cao chiết được sử dụng. Theo Nascimento et al. (2000), nếu vòng vô khuẩn < 7 mm thì dịch chiết thô được xem là có khả năng kháng khuẩn, ≥ 7 mm đối với dịch chiết thô được thử nghiệm được coi là hoạt động kháng khuẩn tốt. Cao chiết từ cây Xuyên tâm liên cho thấy khả năng ức chế sự phát triển của 5 loại vi khuẩn Gram dương và Gram âm đã được thử nghiệm, tạo ra các vùng kháng rõ ràng (Hình 4), so với các kết quả dùng kháng sinh, khác biệt có ý nghĩa 1%.

Bảng 3. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết từ cây Xuyên tâm liên

Nồng độ thí nghiệm (mg/mL)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)				
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. innocua</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
16	2,33 ^c	-	2,0 ^f	-	-
32	4,33 ^{bc}	3,0 ^d	6,16 ^c	4,83 ^d	4,0 ^c
64	5,0 ^{bc}	5,66 ^c	7,83 ^d	9,83 ^c	10,0 ^b
128	6,66 ^b	6,83 ^c	9,16 ^c	12,0 ^b	12,0 ^b
256	8,33 ^b	9,16 ^b	11,0 ^b	16,16 ^a	16,83 ^a
Profloxacin (16 $\mu\text{g/mL}$)	14,33^a	17,0^a	17,33^a	15,33^a	15,66^a
F	**	**	**	**	**
CV (%)	16,14	10,18	5,76	6,07	9,04

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, **: khác biệt có ý nghĩa 1%

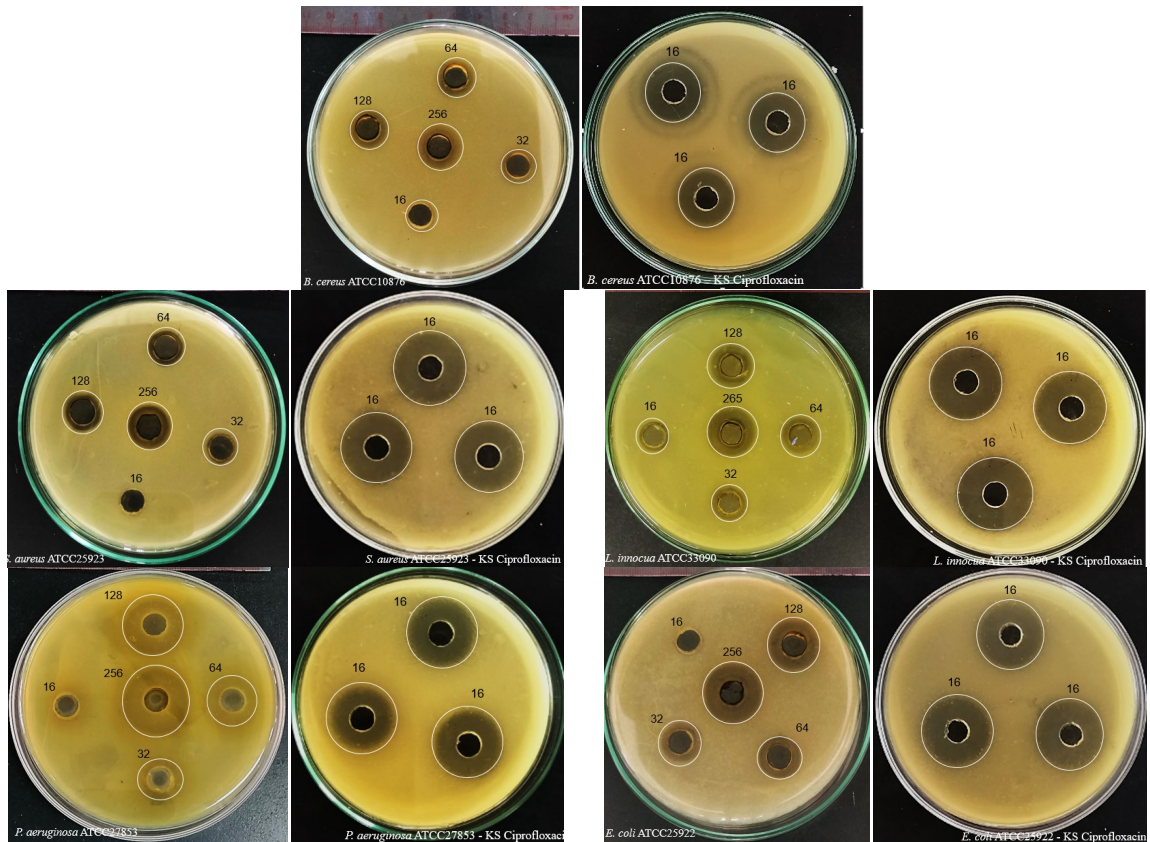
Nồng độ tối thiểu có khả năng ức chế vi khuẩn *B. cereus* ATCC10876 (2,33 mm) và *L. innocua* ATCC33090 (2,0 mm) là 16 mg/mL. Đối với ba chủng khuẩn *S. aureus* ATCC25923 (3,0 mm), *P. aeruginosa* ATCC27853 (4,83 mm) và *E. coli*

ATCC25922 (4,0 mm) cần nồng độ cao chiết cao hơn (32 mg/mL).

Khả năng kháng vi sinh vật của chiết xuất từ thực vật không chỉ phụ thuộc vào một hoạt chất chính mà còn là sự hoạt động kết hợp của những hợp chất khác

nhau (Sunayana et al., 2003). Nhìn chung, các thành phần kháng khuẩn của chiết xuất thực vật sẽ tương tác với các enzyme hoặc protein của màng tế bào vi khuẩn gây ra sự phân tán của các dòng proton, ảnh hưởng tính thấm thấu hoặc ức chế enzyme sinh tổng hợp amino acid của vi khuẩn (Burt, 2004). Các nghiên cứu thực vật học đã phát hiện trong Xuyên tâm liên có chứa các hợp chất đa dạng bao gồm labdane diterpenoid, lactones, flavonoid và các hợp chất khác (Mishra et al., 2007). Nghiên cứu của Tang et al. (2012) đã phân lập được hai hợp chất đặc

trung có hoạt tính sinh học kháng khuẩn quan trọng trong Xuyên tâm liên, đó là 14-deoxyandrographolide và 3-O- β -D-glucosyl 14-deoxyandrographolide. Đây là các hợp chất quan trọng có vai trò kháng vi sinh vật có trong cây Xuyên tâm liên. Hơn nữa, Kawsud et al. (2014) cho rằng hoạt động diệt khuẩn còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như thời gian và nồng độ của dịch chiết, giống cây trồng, dung môi dùng để ly chiết và sự có mặt của các hợp chất có trong nguyên liệu.



Hình 4. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ cây Xuyên tâm liên

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích định lượng cho thấy hàm lượng các hợp chất thực vật có sự khác biệt ở 3 độ tuổi của Xuyên tâm liên. Trong đó, giai đoạn cây ra hoa có các hàm lượng hợp chất quercetine và caffeine cao nhất (giá trị lần lượt là 119,18 và 16,71 mg/g TLK), trong khi đó hàm lượng Andrographolid (0,99 mg/g TLK) cao nhất ở giai đoạn cây già.

Cao chiết từ cây Xuyên tâm liên cho thấy khả năng kháng các gốc oxy hóa và kháng đa dạng các chủng vi khuẩn *B. cereus* ATCC10876, *L. innocua* ATCC33090, *S. aureus* ATCC25923, *P. aeruginosa* ATCC27853 và *E. coli* ATCC25922. Từ đó có thể khẳng định được hoạt tính sinh học từ loài cây này, phục vụ cho công tác nghiên cứu và ứng dụng vào các sản phẩm sinh học trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akihisa, T., Higo, N., Tokuda, H., Ukiya, M., Akazawa, H., Tochigi, Y., Kimura, Y., Suzuki, T., & Nishino, H. (2007). Cucurbitane-type triterpenoids from the fruits of *Momordica charantia* and their cancer chemopreventive effects. *Journal of Natural Products*, 70(8), 1233-1239. <https://doi.org/10.1021/np068075p>
- Ang, L. F., Yam, M. F., Fung, Y. T. T., Kiang, P. K., & Darwin, Y. (2014). HPLC method for simultaneous quantitative detection of quercetin and curcuminoids in traditional chinese medicines. *Journal of pharmacopuncture*, 17(4), 36-49. <https://doi.org/10.3831/KPI.2014.17.035>
- Bajpai, M., Pande, A., Tewari, S. K., & Prakash, D. (2005). Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(4), 287-291. <https://doi.org/10.1080/09637480500146606>
- Bhan, M. K., Dhar, A. K., Khan, S., Lattoo, S. K., Gupta, K. K., & Choudhary, D. K. (2006). Screening and optimization of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees for total andrographolide content, yield and its components. *Scientia Horticulturae*, 107(4), 386-391.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Hộ, P.H. (2003). *Cây cỏ Việt Nam*, quyển III. Nhà xuất bản trẻ, trang 60.
- Huong, T. N. L., & Bạch, L. T. (2017). *Giáo trình hóa học hợp chất thiên nhiên*. Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ.
- Kawsud, P., Puripattanavong, J., & Teanpaisan, R. (2014). Screening for anticandidal and antibiofilm activity of some herbs in Thailand. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), 1495-1501. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i9.16>
- Kurzawa, M., Filipiak-Szok, A., Klodzińska, E., & Sztyk, E. (2015). Determination of phytochemicals, antioxidant activity and total phenolic content in *Andrographis paniculata* using chromatographic methods. *Journal of Chromatography B*, 995, 101-106. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.05.021>
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Mishra, S. K., Sangwan, N. S., & Sangwan, R. S., (2007). *Pharmacognosy Reviews: Plant review Andrographis paniculata* (Kalmegh): A review. *Pharmacognosy Reviews*, 1(2), 283-298.
- Nascimento, G. G., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4), 247-256. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000400003>
- Pokhrel, P., Shrestha, S., Rijal, S. K., & Rai, K. P. (2016). A simple HPLC Method for the Determination of Caffeine Content in Tea and Coffee. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 9, 74-78. <https://doi.org/10.3126/jfstn.v9i0.16200>
- Pholphana, N., Rangkadilok, N., Saehun, J., Ritruetchai, S., & Satayavivad, J. (2013). Changes in the contents of four active diterpenoids at different growth stages in *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees (Chuanxinlian). *Chinese Medicine*, 8(1), 1-12.
- Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 20(2), 101-153. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00007-1](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00007-1)
- Saravanan, R., Krishti, S., Gajbhiye, N. A., & Maiti, S. (2008). Influence of light intensity on gas exchange, herbage yield and andrographolide content in *Andrographis paniculata* (Nees.). *Indian Journal of Horticulture*, 65(2), 220-225.
- Sharma, M., & Sharma, R. (2013). Identification, purification and quantification of andrographolide from *Andrographis paniculata* (burm. F.) Nees by HPTLC at different stages of life cycle of crop. *J curr chem pharm sci*, 3(1), 23-32.
- Sunayana, V., Vadivukkarasi, P., Rajendran, A., Xavier, T. F., & Natarajan, E. (2003). Antibacterial potential of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. A study in vitro. *The Journal of the Swamy Botanical Club*, 20, 55-58.
- Tajidin, N. E. (2017). *Effects of plant harvest age and plant parts on phytochemical compounds of Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees (Doctoral dissertation, PhD Thesis). Universiti Putra Malaysia, Serdang, Malaysia).
- Tang, L. I., Ling, A. P., Koh, R. Y., Chye, S. M., & Voon, K. G. (2012). Screening of anti-dengue activity in methanolic extracts of medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-3>
- Trang, Đ. T. X. (2019). *Giáo trình Thực tập Thử nghiệm sinh học*. Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ.