

DOI:10.22144/ctujos.2024.398

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA, KHÁNG VIÊM VÀ KHÁNG KHUẨN CỦA CÂY RAU DỆU (*Alternanthera sessilis*)

Phan Kim Định¹, Vạng Thành Thái¹, Tô Hoàng Duy¹, Đỗ Trâm Anh¹ và Trần Chí Linh^{2*}

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

²Khoa Y, Trường Đại học Nam Cần Thơ

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

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 28/12/2023

Sửa bài (Revised): 27/02/2024

Duyệt đăng (Accepted): 28/04/2024

Title: Investigation of the antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities of *Alternanthera sessilis*

Author(s): Phan Kim Dinh¹, Vạng Thanh Thai¹, Tô Hoàng Duy¹, Đỗ Trâm Anh¹ and Trần Chí Linh^{2*}

Affiliation(s): ¹Can Tho University, ²Nam Can Tho University

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để xác định hóa thực vật và hoạt tính sinh học của các cao thân lá, thân và lá rau dệu. Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định dựa vào hoạt động trung hòa hoặc ức chế các gốc tự do phi sinh học. Hoạt tính kháng viêm được xác định dựa trên khả năng bảo vệ màng tế bào hồng cầu và ức chế sự biến tính protein. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu. Các cao rau dệu có hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm với giá trị EC₅₀ dao động từ 50,60±0,29 đến 125,58±7,12 µg/mL. Các cao rau dệu ức chế vi khuẩn Gram dương hiệu quả hơn Gram âm, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu dao động từ 250 đến 2.000 µg/mL. Hoạt động kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng khuẩn của rau dệu có liên quan đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid. Kết quả này cho thấy tiềm năng sử dụng cao rau dệu như chất kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn tự nhiên.

Từ khóa: Kháng khuẩn, kháng oxy hóa, kháng viêm, rau dệu

ABSTRACT

The present study was carried out to determine the phytochemistry and biological activity of extracts from the above-ground parts (stems and leaves), and the leaves and stems of *Alternanthera sessilis*. Antioxidant activity is determined based on neutralising or inhibiting abiotic free radicals. Anti-inflammatory activity was determined based on its ability to protect red blood cell membranes and inhibit bovine serum albumin denaturation. The antibacterial activity was determined by determining the antibacterial ring diameter, the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration. *Alternanthera sessilis* extracts have antioxidant and anti-inflammatory activities with EC₅₀ values ranging from 50.60±0.29 to 125.58±7.12 µg/mL. *Alternanthera sessilis* extracts have the ability to inhibit Gram-positive bacteria more effectively than Gram-negative bacteria with minimum bactericidal concentrations ranging from 250 to 2,000 µg/mL. The antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities of *Alternanthera sessilis* extracts are related to the polyphenols, flavonoids and alkaloids content. These results highlighted the potential use of *Alternanthera sessilis* extracts as a natural antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial agent.

Keywords: *Alternanthera sessilis*, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant

1. GIỚI THIỆU

Stress oxy hóa xảy ra do sự sản xuất quá mức gốc tự do và giảm khả năng bảo vệ kháng oxy hóa có thể dẫn đến nhiều tác hại cho cơ thể, gây ra bệnh mãn tính như: ung thư, Parkinson, đái tháo đường, tim mạch và xơ vữa mạch máu (Miyamoto et al., 2018). Chất kháng oxy hóa có liên quan đến giảm nguy cơ mắc các bệnh nêu trên bằng cách ổn định hoặc vô hiệu hóa các gốc tự do. Bên cạnh đó, gốc tự do cũng được xem như một tác nhân phổ biến quan trọng trong việc gây ra các bệnh liên quan đến viêm. Viêm được định nghĩa là quá trình cơ thể phản ứng với tổn thương và nhiễm trùng. Viêm có 2 loại là viêm cấp tính và viêm mạn tính. Viêm cấp tính có thời gian ngắn và được giải quyết nhanh chóng. Viêm mạn tính là một quá trình kéo dài trong đó phá hủy mô và viêm xảy ra cùng một lúc (Patel et al., 2012). Các loại thuốc hóa tổng hợp được sử dụng trong việc điều trị các bệnh lý liên quan đến viêm và gốc tự do thường có giá thành cao và có nhiều tác dụng phụ. Do đó, các nhà khoa học đã và đang đặc biệt quan tâm đến các loại thực vật chứa các hợp chất thiên nhiên có khả năng kháng oxy hóa, kháng viêm vì khả năng trung hòa gốc tự do của chúng (Dissanayake et al., 2018). Thực vật cũng được coi là một nguồn hợp chất có hoạt động kháng khuẩn (Ponce et al., 2008). Hoạt động kháng khuẩn của thực vật có thể được xác định bằng cách quan sát phản ứng tăng trưởng của vi sinh vật với chiết xuất thực vật. Thực vật sở hữu hoạt tính kháng khuẩn do sự hiện diện các hợp chất có hoạt tính sinh học như glycoside, saponin, flavonoid và alkaloid (Nascimento et al., 2000).

Rau dệu là loài thực vật phân bố phổ biến ở các tỉnh thuộc vùng đồng bằng sông Cửu Long. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy cây rau dệu sở hữu nhiều hoạt động dược lý quan trọng, bao gồm khả năng kháng viêm, giảm đau, hạ nhiệt, an thần, kháng vi sinh vật, kháng oxy hóa, hạ glucose huyết và chống đục thủy tinh thể (Kota et al., 2017). Cây rau dệu chứa nhiều hợp chất chuyển hóa thứ cấp quan

trọng như tannin, saponin, flavonoid, steroid, terpenoid, glycoside, phenol, phytosterol và alkaloid (Kota et al., 2017; Muniandy et al., 2018a; Muniandy et al., 2018b; Razali et al., 2022). Ở Việt Nam, trong dân gian cây rau dệu được sử dụng giúp lợi tiểu, trị táo bón, tiêu viêm, mắt ngứa, tuy nhiên các nghiên cứu khoa học chứng minh hoạt tính sinh học của cây rau dệu ở Việt Nam vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu này tập trung vào khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng một số vi khuẩn thử nghiệm, nhằm góp một phần vào những công trình nghiên cứu để cây rau dệu được ứng dụng và khai thác mạnh mẽ hơn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cây rau dệu được thu thập vào tháng 01 năm 2022 tại Hậu Giang. Cây được nhận diện dựa vào đặc điểm hình thái theo mô tả trong bộ sách cây cỏ Việt Nam của Hộ (2003). Đặc điểm hình thái của cây rau dệu được trình bày trong Hình 1.

Các dòng vi khuẩn: *Listeria innocua* ATCC33090, *Bacillus cereus* ATCC 10876TM, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27855, *Escherichia coli* ATCC 25922TM, *Salmonella typhi* ATCC 13311TM được cung cấp bởi Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Ethanol (Merck), dimethyl sulfoxide (Merck), Follin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck), sodium carbonate (Merck), aluminium chloride (Merck), sodium hydroxide (Merck), sodium nitroprusside (Merck), sodium acetate (Merck), acetic acid (Merck), 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (SigmaAldrich), iron (III) chloride (Sigma-Aldrich), kali pesulfat (Merck), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (Germany), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich) và một số hóa chất khác.



Hình 1. Hình thái rau dệu (*Alternanthera sessilis* L.)

Chú thích: (A): Rau dệu; (B): Thân lá rau dệu; (C), (D): Lá rau dệu; (E), (F): Hoa rau dệu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Điều chế cao ethanol từ thân và lá cây rau dệu

Phần trên mặt đất (thân mang lá) của cây rau dệu sau khi thu về được làm sạch và chia thành 2 phần, một phần giữ nguyên thân mang lá (quy ước gọi là thân lá), phần còn lại tách lá và thân riêng. Ba phần mẫu bao gồm thân lá, thân và lá được sấy khô ở nhiệt độ $45 \pm 2^\circ\text{C}$. Thân lá, thân và lá rau dệu sau khi sấy khô được xay nhuyễn thành mẫu bột nguyên liệu. Các bột nguyên liệu được xác định độ ẩm theo hướng dẫn của Dược điển Việt Nam V (Bộ y tế, 2018). Sau đó, các mẫu bột được điều chế thành các cao ethanol theo phương pháp ngâm. Các mẫu bột nguyên liệu lần lượt được cho vào trong túi vải, đặt vào lọ thủy tinh, tiếp tục cho ethanol 99,5% vào ngâm khoảng 24 giờ, lặp lại 3 lần. Dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô quay đuôi dung môi để thu được 3 loại cao ethanol (cao thân lá rau dệu, cao thân rau dệu và cao lá rau dệu). Các loại cao chiết được xác định hiệu suất chiết cao theo công thức: $\text{Hiệu suất chiết cao (\%)} = \frac{m_{\text{cao}}}{(m_{\text{bột}} - (m_{\text{bột}} \times \text{độ ẩm}))} \times 100$. Trong đó, m_{cao} khối lượng của cao chiết; $m_{\text{bột}}$ là khối lượng bột nguyên liệu dùng để chiết cao. Các cao của cây rau dệu được bảo quản trong lọ thủy tinh, tránh ánh sáng ở 4°C dùng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.3.2. Định tính sơ bộ thành phần hóa học, định lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid tổng

Định tính sơ bộ thành phần hóa học

Các thuốc thử tạo màu đặc trưng được dùng để định tính một số hợp chất như: alkaloid, flavonoid, glycoside, phenol, tanin, triterpenoid, saponin có trong các cao chiết rau dệu theo mô tả của Phụng (2007).

Định lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton et al. (1999): Hỗn hợp phản ứng gồm 50 μL cao, 50 μL nước khử ion và 50 μL thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều; sau đó, thêm vào 50 μL Na_2CO_3 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. Acid gallic được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình tuyến tính. Hàm lượng polyphenol trong các cao chiết rau dệu được xác định dựa trên phương trình tuyến tính của acid gallic (mg GAE/g cao).

Phương pháp định lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp của Bag et al. (2015): Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL cao chiết, 1 mL nước khử ion, lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 200 μL NaNO_2 5%; để yên 5 phút tiếp tục thêm 200 μL AlCl_3 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 2 mL NaOH 1M. Cuối cùng, hỗn hợp phản ứng được thêm 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 để xây dựng phương trình tuyến tính. Hàm lượng flavonoid tổng trong các cao chiết rau dệu được xác định dựa vào phương trình tuyến tính của quercetin (mg QE/g cao chiết).

Phương pháp định lượng alkaloid tổng

Hàm lượng alkaloid được xác định bằng phương pháp hình thành phức hợp với bromocresol green (BCG), tạo thành sản phẩm có màu vàng. Cao chiết (1 mL) được cho phản ứng với 1 mL dung dịch HCl 2 N. Sau khi phản ứng 5 phút, dung dịch trên được lọc bằng giấy lọc để loại bỏ cặn. Cho dung dịch trên vào bình tách chiết lần lượt thêm vào 5 mL BCG và 5 mL dung dịch đệm phosphate (pH 4,7). Cuối cùng, hỗn hợp được lắc mạnh bằng bình tách chiết với 10 mL dung dịch chloroform, sau 2 phút phản ứng ở nhiệt độ phòng, tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 470 nm. Hàm lượng alkaloid (mg AE/g cao chiết) trong các cao chiết rau dệu được xác định dựa vào phương trình tuyến tính của atropine (Shamsa et al., 2008).

2.3.3. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Khả năng kháng oxy hóa của các cao rau dệu được xác định nhờ phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH theo mô tả của Sharma & Bhat (2009) có hiệu chỉnh. Hút 480 μL cao chiết (nồng độ từ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$) vào các eppendorf, sau đó thêm vào mỗi eppendorf 20 μL dung dịch DPPH, đặt các hỗn hợp phản ứng ở nơi tối trong 30 phút và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH được xác định dựa vào giá trị EC_{50} (nồng độ hiệu quả 50%, effective concentration of 50%) và hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH. Giá trị EC_{50} được tính dựa vào phương trình tuyến tính của cao chiết. Vitamin C được sử dụng là chất đối chứng dương khảo sát ở các nồng độ 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 $\mu\text{g/mL}$. Hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH được tính theo công thức: $\text{Hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH (\%)} = ((A-B)/A) \times$

100. Trong đó: A độ hấp thu quang phổ khi không có vitamin C hoặc cao chiết, B độ hấp thu quang phổ khi có vitamin C hoặc cao chiết.

Khảo sát khả năng trung hòa gốc tự do 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺)

Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết rau dền được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS⁺ được mô tả bởi Nenadis et al. (2004) có hiệu chỉnh. ABTS⁺ được tạo ra do phản ứng ABTS 7 mM với 2,45 mM kali persulfate (K₂S₂O₈). Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng 16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng để đạt mật độ quang ở bước sóng 734 nm là 0,70±0,05. Khảo sát được tiến hành bằng cách cho 10 µL cao chiết (nồng độ từ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) vào các eppendorf, sau thêm 990 µL ABTS⁺ ở nhiệt độ 37°C trong 6 phút, độ hấp thu quang phổ được đo ở bước sóng 734 nm. Khả năng kháng oxy hóa được xác định dựa vào giá trị EC₅₀ và hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS⁺. Giá trị EC₅₀ được tính dựa vào phương trình tuyến tính của cao chiết. Vitamin C được sử dụng là chất đối chứng dương được khảo sát ở các nồng độ 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5 µg/mL. Hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS⁺ được tính theo công thức: Hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS⁺ (%) = ((A-B)/A) × 100. Trong đó: A độ hấp thu quang phổ khi không có vitamin C hoặc cao chiết, B độ hấp thu quang phổ khi có vitamin C hoặc cao chiết.

Khảo sát khả năng ức chế sự hình thành nitric oxide (NO[•])

Khả năng ức chế sự hình thành nitric oxide của các cao chiết rau dền được thực hiện theo mô tả bởi Sreejayan & Rao (1997) có hiệu chỉnh. Khảo sát được thực hiện bằng cách cho 100 µL cao chiết (nồng độ từ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) vào 200 µL sodium nitroprusside 5 mM và ủ sáng 60 phút ở 25°C. Sau đó, thêm 300 µL thuốc thử Griess (1% sulfanilamide, 2% H₃PO₄ và 0,1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride). Độ hấp thu quang phổ được đo ở bước sóng 546 nm. Khả năng ức chế sự hình thành NO[•] được xác định dựa vào giá trị EC₅₀ và hiệu suất ức chế. Giá trị EC₅₀ được tính dựa vào phương trình tuyến tính của cao chiết. Hiệu suất ức chế sự hình thành NO[•] được tính theo công thức: Hiệu suất ức chế sự hình thành nitric oxide (%) = ((A-B)/A) × 100. Trong đó: A độ hấp thu quang phổ khi không có vitamin C hoặc cao chiết, B độ hấp thu quang phổ khi có vitamin C hoặc cao chiết. Vitamin C được sử dụng là chất đối chứng

dương được khảo sát ở các nồng độ 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL.

Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp tiềm năng khử sắt (Ferric reducing-antioxidant power, FRAP)

Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết rau dền được xác định bằng cách xác định tiềm năng khử sắt theo mô tả của Benzie & Strain (1996) có hiệu chỉnh. Khảo sát được thực hiện bằng cách cho 10 µL cao chiết (nồng độ từ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) vào eppendorf, sau thêm 990 µL dung dịch FRAP và đặt ở nơi tối trong 30 phút, độ hấp thu quang phổ được đo ở bước sóng 593 nm. Tiềm năng khử sắt được xác định dựa vào giá trị Abs_{0,5} (độ hấp thu quang phổ đạt 0,5). Giá trị Abs_{0,5} được tính dựa vào phương trình tuyến tính của các cao chiết rau dền. Vitamin C được sử dụng là chất đối chứng dương được khảo sát ở các nồng độ 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 và 1 µg/mL.

Khảo sát khả năng kháng oxy hóa tổng (total antioxidant capacity, TAC)

Hoạt tính kháng oxy hóa tổng của các cao chiết rau dền được đánh giá bằng phương pháp phosphomolybdenum theo mô tả của Prieto et al. (1999) có hiệu chỉnh. Khảo sát được tiến hành bằng cách cho 300 µL cao chiết (nồng độ từ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) vào eppendorf, sau đó thêm 900 µL dung dịch TAC, ủ trong 90 phút ở nhiệt độ 95°C. Sau khi ủ, đo mật độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 695 nm. Khả năng kháng oxy hóa được xác định dựa vào giá trị Abs_{0,5}. Giá trị Abs_{0,5} được tính dựa vào phương trình tuyến tính của các cao chiết rau dền. Vitamin C được sử dụng là chất đối chứng dương được khảo sát ở các nồng độ 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL.

2.3.4. Khảo sát khả năng kháng viêm của các cao chiết từ thân và lá cây rau dền

Khảo sát khả năng bảo vệ màng tế bào hồng cầu (red blood cells, RBCs)

Khả năng bảo vệ màng tế bào hồng cầu được thực hiện theo mô tả của Chaity et al. (2016) có hiệu chỉnh. Máu chuột khỏe mạnh được rút ở tim và chuyển sang các ống ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ phần dịch trong và rửa lại 3 lần với nước muối sinh lý. Sau đó, rút 100 µL máu vào 900 µL NaCl 0,9% thu được dung dịch RBCs 10%. Hỗn hợp phản ứng gồm 200 µL cao chiết có nồng độ khác nhau (từ 0, 10, 50, 100, 150, 200 µg/mL) và 200 µL RBCs 10%. Hỗn hợp ủ ở 56°C trong 30 phút và làm mát. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ly tâm

ở 2.500 vòng/phút trong 5 phút. Mật độ quang được đo ở bước sóng 560 nm. Khả năng bảo vệ màng tế bào hồng cầu được xác định dựa vào giá trị EC₅₀ và hiệu suất bảo vệ màng tế bào hồng cầu. Giá trị EC₅₀ được tính dựa vào phương trình tuyến tính của cao chiết. Hiệu suất bảo vệ màng tế bào hồng cầu được tính như sau: Hiệu suất bảo vệ (%) = ((A-B)/A) × 100. Trong đó: A độ hấp thụ quang phổ khi không có diclofenac hoặc cao chiết, B độ hấp thụ quang phổ khi có diclofenac hoặc cao chiết. Diclofenac được sử dụng là chất đối chứng dương được khảo sát ở các nồng độ 0; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 và 200 µg/mL.

Khảo sát khả năng ức chế sự biến tính protein

Khả năng ức chế sự biến tính protein của các cao chiết rau dệu được thực hiện theo phương pháp của Shah et al. (2017) có hiệu chỉnh. Dung dịch thử 1 mL (ở các nồng độ khác nhau) được trộn với 1 ml dung dịch albumin huyết thanh bò (bovine serum albumin, BSA) 5%. Sau đó, hỗn hợp được ủ ở 27°C trong 15 phút. Sự biến tính protein được tạo ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 80°C trong 10 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 660 nm. Diclofenac được sử dụng như chất đối chứng dương. Khả năng ức chế sự biến tính protein được xác định dựa vào giá trị EC₅₀ và hiệu suất ức chế sự biến tính. Giá trị EC₅₀ được tính dựa vào phương trình tuyến tính của cao chiết. Hiệu suất ức chế sự biến tính protein của các cao chiết được xác định theo công thức sau: % Ức chế sự biến tính albumin huyết thanh bò = 100 (1-Vt/Vc). Trong đó, Vt: giá trị mật độ quang của mẫu thử, Vc: giá trị mật độ quang của mẫu đối chứng không có cao chiết.

2.3.5. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết rau dệu

Phương pháp khuếch tán giếng thạch

Phương pháp khuếch tán giếng thạch được sử dụng để xác định đường kính vòng kháng khuẩn. Mỗi loại cao chiết, cân 0,01 g và hòa tan trong 1.000 µL DMSO 10% (nồng độ của các cao chiết tương ứng 10.000 µg/mL). Sau đó, các cao chiết được pha loãng với dung môi DMSO 10% thành các dung dịch có nồng độ: 125, 250, 500, 1.000 và 2.000 µg/mL. Dịch vi khuẩn sau khi pha loãng trong nước muối sinh lý có mật độ quang tại bước sóng 600 nm là 0,5 (OD₆₀₀ = 0,5). Sau đó, 100 µL dịch vi khuẩn được cấy trải lên bề mặt đĩa petri có chứa môi trường thạch Luria Bertani (LB), để khô, đục 5 giếng có đường kính 7 mm; bổ sung 50 µL cao chiết ở các nồng độ 160, 320, 640, 1.280, 2.560 µg/mL vào các giếng trên đĩa petri có chứa môi trường thạch LB và

dịch vi khuẩn thử nghiệm. Mẫu thử nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ; sau đó, đo và ghi nhận đường kính vòng kháng khuẩn xuất hiện xung quanh giếng trên đĩa thạch (Ngan et al., 2012).

Phương pháp pha loãng vi mô

Phương pháp pha loãng vi mô được thực hiện trên đĩa 96 giếng với chất chỉ thị màu resazurin được sử dụng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC (Minimum inhibitory concentration). Nồng độ ức chế tối thiểu MIC được định nghĩa là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ thử nghiệm của các cao chiết có thể ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn (không làm đổi màu của resazurin). Hỗn hợp thử nghiệm gồm 50 µL cao chiết, 50 µL dịch vi khuẩn (OD₆₀₀ = 0,5). Các giếng đối chứng chứa dịch vi khuẩn, môi trường và DMSO 10%. Mẫu được ủ ở 37°C, sau 24 giờ, 20 µL thuốc thử resazurin 0,01% được cho vào mỗi giếng. Quan sát sự thay đổi màu, ghi nhận giá trị MIC. Các giếng có sự đổi màu dung dịch resazurin từ màu xanh sang màu hồng cho thấy có sự tăng trưởng của vi khuẩn trong giếng. Các giếng không có sự đổi màu chất chỉ thị ở nồng độ cao chiết thử nghiệm thấp nhất chính là nồng độ ức chế tối thiểu MIC cần xác định (Ngan et al., 2012).

Phương pháp đếm sống nhỏ giọt

Phương pháp đếm sống nhỏ giọt dùng để xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu MBC (Minimum bactericidal concentration). Dựa vào giá trị MIC đã xác định, cho 10 µL dịch vi khuẩn kết hợp với các cao chiết rau dệu ở nồng độ không làm đổi màu chất chỉ thị resazurin, được nhỏ lên trên các đĩa môi trường thạch LB và ủ ở 37°C, sau 24 giờ quan sát sự sống sót của vi khuẩn. Giá trị MBC chính là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ của các cao chiết có thể diệt được toàn bộ vi khuẩn, không có khuẩn lạc nào xuất hiện trên đĩa môi trường thạch LB (Ngan et al., 2012).

2.3.6. Thống kê phân tích số liệu

Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± sai số (MEAN ± SEM). Kết quả được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA (kiểm định Tukey's) bằng phần mềm Minitab 16.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả điều chế cao chiết, định tính và định lượng thành phần hóa học

Thân lá rau dệu (500 g), lá rau dệu (250 g) và thân rau dệu (250 g) tươi sau khi thu hái, được sấy khô, xay nhuyễn thành bột nguyên liệu thân lá rau dệu (440 g), lá rau dệu (210 g), thân rau dệu (230 g) với độ ẩm lần lượt là 6,43 ± 0,59; 6,90 ± 0,79 và

5,70±0,95%. Các mẫu bột nguyên liệu có độ ẩm đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V được sử dụng để đều chế cao. Bột thân lá rau dệu (5 g), lá rau dệu (5 g) và thân rau dệu (5 g) được ngâm với ethanol 99,5% (3 × 50 mL) trong 24 giờ. Phần dịch ngâm với ethanol 99,5% được cô đuổi dung môi, thu được cao chiết thân lá, cao chiết lá và cao chiết thân rau dệu với hiệu suất lần lượt là 15,12±0,91; 18,28±1,39 và 12,71±3,09%. Kết quả định tính thành phần hóa học cho thấy trong các cao chiết rau dệu có chứa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin, saponin, glycoside, sesquiterpen lacton (Bảng 1). Theo Kota et al. (2017), trong cây rau dệu có tannin, saponin, flavonoid, steroid, terpenoid, glycoside, phenol, phytosterol và alkaloid. Như vậy, trong cây rau dệu có sự hiện diện đa dạng của các hợp chất chuyển hóa thứ cấp giàu hoạt tính sinh học.

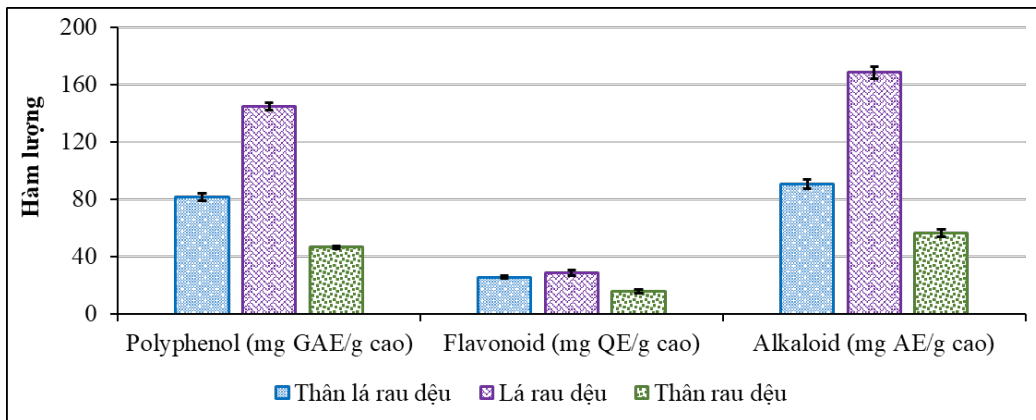
Polyphenol, flavonoid và alkaloid là những nhóm hợp chất chuyển hóa thứ cấp chịu trách nhiệm chính cho hoạt động kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng ung thư, bảo vệ tim mạch, thúc đẩy hệ thống miễn dịch, bảo vệ da khỏi bức xạ UV và là

những thành phần tiềm năng cho ứng dụng dược phẩm và y tế (Tungmunnithum et al., 2018; Heinrich et al., 2021). Do đó, polyphenol, flavonoid và alkaloid được lựa chọn để định lượng và kết quả được trình bày trong Hình 2. Các loại cao chiết rau dệu có hàm lượng polyphenol dao động từ 46,43±0,86 đến 144,58±2,47 mg GAE/g cao chiết, hàm lượng flavonoid dao động từ 15,78±1,06 đến 28,72±2,13 mg QE/g cao chiết và hàm lượng alkaloid dao động từ 56,44±2,44 đến 168,46±4,27 mg AE/g cao chiết. Trong đó, cao chiết lá rau dệu có hàm lượng polyphenol, flavonoid, alkaloid lần lượt cao gấp 3,11, 1,82 và 2,98 lần cao chiết thân rau dệu. Nguyên nhân có thể là do lá là cơ quan chính thực hiện chức năng quang hợp và nhiều chu trình chuyển hóa vật chất khác (các quá trình chuyển hóa này hình thành rất nhiều gốc tự do dẫn đến stress thực vật) cũng như lá dễ bị tấn công bởi sâu hại và nấm bệnh. Điều này thúc đẩy lá cây phải tổng hợp nhiều hợp chất chuyển hóa thứ cấp hơn để chống lại các tác nhân bất lợi (Jan et al., 2021; Twaij et al., 2022).

Bảng 1. Định tính sơ bộ thành phần hóa học trong các cao chiết rau dệu

Nhóm hợp chất	Tên thuốc thử	Hiện tượng	Kết luận		
			Thân lá rau dệu	Lá rau dệu	Thân rau dệu
Alkaloid	Dragendorff	Kết tủa màu cam-nâu	+	+	+
	Wagner	Kết tủa màu nâu	-	-	-
Flavonoid	FeCl ₃	Kết tủa xanh đen	+	+	+
	NaOH 1%	Xuất hiện màu vàng đến cam-đỏ	+	+	+
Triterpenoid	Rosenthaler	Dung dịch chuyển sang màu xanh lục hoặc tím	-	-	-
Steroid	Salkowski	Dung dịch chuyển sang màu đỏ đậm, xanh, xanh tím	+	-	+
Tannin	Pb(CH ₃ COO) ₂ bão hòa (lắc trong nước)	Có kết tủa	-	+	-
Saponin		Có tạo bọt bền trong 5 phút	-	-	-
Đường khử	Fehling	Kết tủa đỏ gạch	-	+	-
Sesquiterpen lacton	LEGAL	Dung dịch màu đỏ đậm	-	+	+

Ghi chú: Dấu “+”: Cao chiết cho phản ứng dương tính với thuốc thử, có sự hiện diện của hợp chất trong cao chiết. Dấu “-”: Cao chiết cho phản ứng âm tính với thuốc thử, không có sự hiện diện của hợp chất trong cao chiết.



Hình 2. Hàm lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid trong các cao chiết rau dệu

3.2. Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm *in vitro* của các cao chiết rau dệu

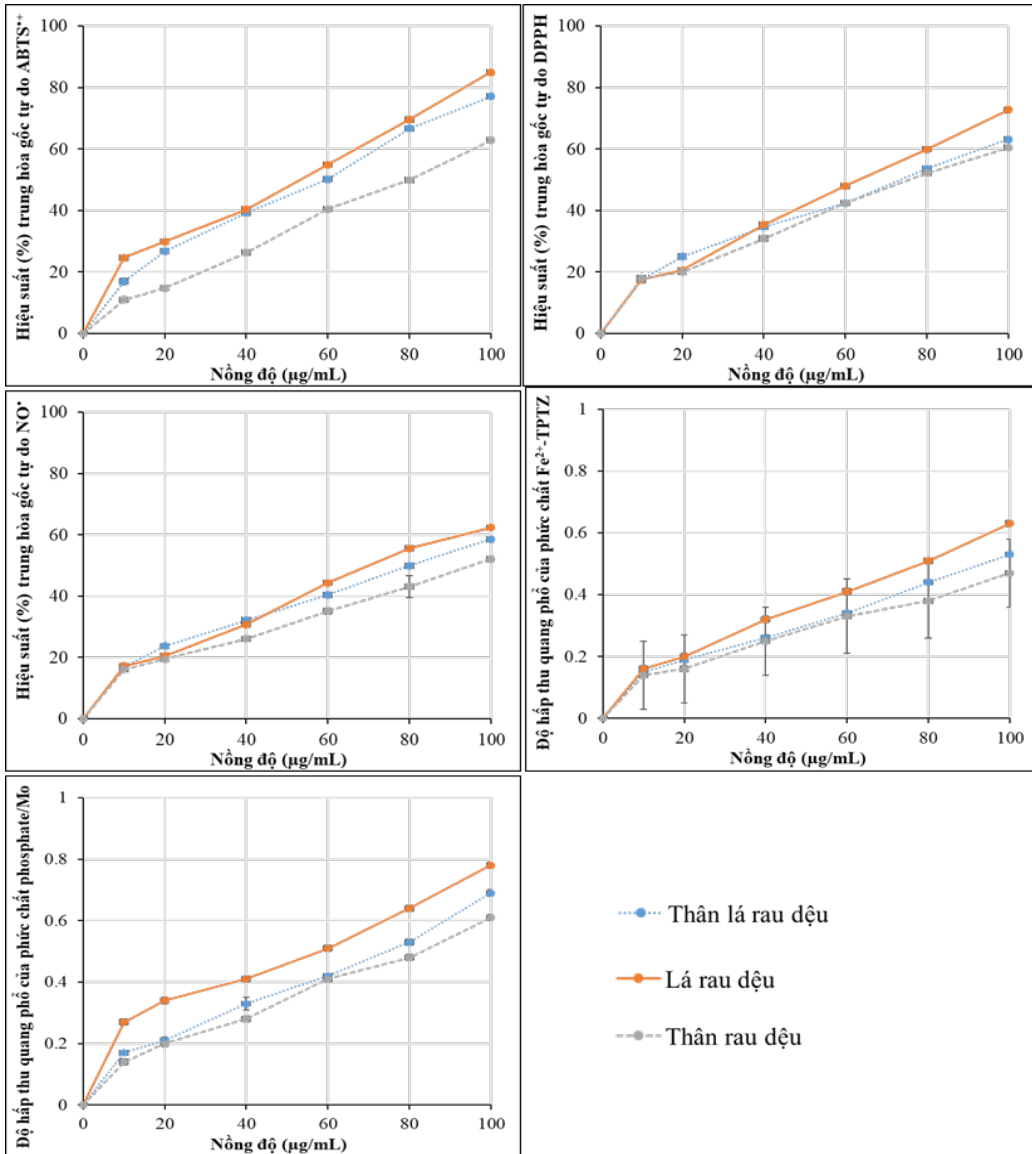
Stress oxy hóa là kết quả của sự mất cân bằng giữa các hoạt động oxy hóa và kháng oxy hóa. Con người có một hệ thống phòng thủ kháng oxy hóa trong cơ thể, khi ROS (Reactive Oxygen Species), RNS (Reactive Nitrogen Species) tích lũy vượt quá khả năng kháng oxy hóa nội tại của cơ thể dẫn đến quá trình oxy hóa quá mức gây tổn thương cho tế bào hoặc mô. Các cao chiết rau dệu có chứa nhiều nhóm hợp chất chuyển hóa thứ cấp cho thấy tiềm năng kháng oxy hóa cao. Kết quả đánh giá tiềm năng kháng oxy hóa của các cao chiết rau dệu thông qua 5 phương pháp (ABTS⁺, DPPH, NO[•], FRAP và TAC) được trình bày trong Hình 3. Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺, DPPH và NO[•] của các cao chiết rau dệu dao động từ 10,99±0,48 đến 84,90±0,33%. Kết quả cho thấy, khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺, DPPH và NO[•] tăng dần theo nồng độ của mẫu thử. Cụ thể, hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS⁺, DPPH và NO[•] ở các nồng độ được khảo sát đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Tiềm năng khử của các cao chiết rau dệu có thể được đánh giá dựa vào tiềm năng tạo thành phức chất với các ion kim loại, đặc biệt là sắt và đồng. Trong đó, các phức chất chứa sắt thường được sử dụng rộng rãi trong việc đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa theo hướng khử các ion Fe³⁺ thành Fe²⁺. Cao chiết thân lá rau dệu, lá rau dệu và thân rau dệu làm cho độ hấp thụ quang phổ của phức Fe²⁺-TPTZ lần lượt từ 0,15±0,00; 0,16±0,01, 0,14±0,01 ở nồng độ 10 µg/mL tăng lên lần lượt là 0,53±0,00; 0,63±0,01 và 0,47±0,01 ở nồng độ 100 µg/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) ở tất cả các nồng độ được khảo sát. Ở nồng độ 100 µg/mL, độ hấp thụ quang phổ của phức Fe²⁺-TPTZ dưới tác động của

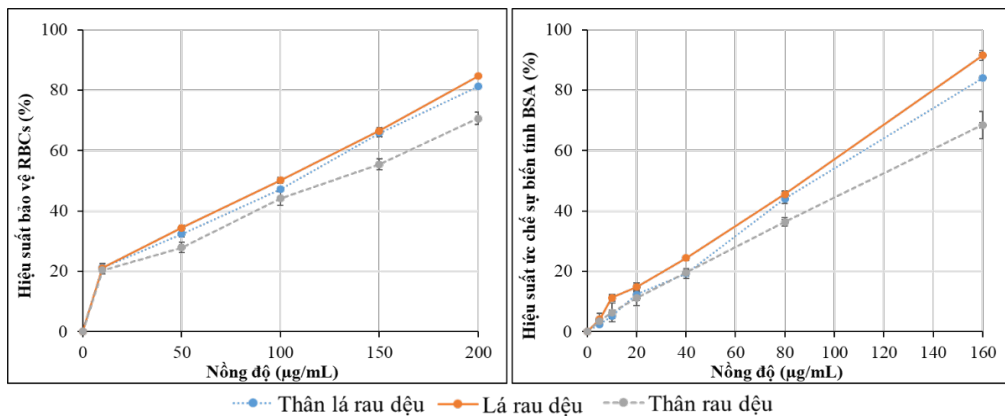
cao chiết lá rau dệu mạnh hơn cao chiết thân lá rau dệu và cao chiết thân rau dệu lần lượt là 1,19 và 1,34 lần.

Hoạt tính kháng oxy hóa tổng được xác định dựa trên việc khử Mo (VI) thành Mo (V) bằng các hợp chất kháng oxy hóa và hình thành phức hợp phosphate/Mo (V) có màu xanh. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ hấp thụ quang phổ của phức hợp phosphate/Mo (V) tăng tỷ lệ thuận với nồng độ của mẫu thử. Cao chiết thân lá rau dệu, lá rau dệu và thân rau dệu cũng làm cho độ hấp thụ quang phổ của phức hợp phosphate/Mo (V) lần lượt từ 0,17±0,00; 0,27±0,01, 0,14±0,01 ở nồng độ 10 µg/mL tăng lên lần lượt là 0,69±0,01; 0,78±0,01 và 0,61±0,01 ở nồng độ 100 µg/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) ở tất cả các nồng độ được khảo sát.

Hoạt tính kháng viêm của các cao chiết rau dệu được xác định thông qua khả năng bảo vệ RBCs và ức chế sự biến tính BSA. Các RBCs giữ vai trò quan trọng đối với cơ thể con người, bảo vệ được RBCs góp phần tăng cường sức khỏe chống được nhiều bệnh tật. Dưới tác động của nhiệt độ cao, BSA trải qua quá trình biến tính và biểu hiện các kháng nguyên liên quan đến phản ứng quá mẫn loại 3 liên quan đến các bệnh như viêm cầu thận, viêm khớp dạng thấp và lupus ban đỏ (Ullah et al., 2014). Do đó, ức chế được sự biến tính BSA phần nào đã thể hiện được tiềm năng điều trị các bệnh do viêm của các loài thực vật. Trong nghiên cứu này, các cao chiết rau dệu đã thể hiện tốt khả năng bảo vệ RBCs thoát khỏi sự tán huyết do nhiệt với hiệu suất bảo vệ dao động từ 20,36±1,25 đến 84,64±0,16% ở nồng độ 10 đến 200 µg/mL và ức chế sự biến tính BSA với hiệu quả đạt 2,50±0,45 đến 91,54±1,61% ở nồng độ 5 đến 160 µg/mL (Hình 4)



Hình 3. Khả năng kháng oxy hóa *in vitro* của các cao chiết rau dệu



Hình 4. Khả năng kháng viêm *in vitro* của các cao chiết rau dệu

Bảng 2. Nồng độ các cao chiết rau dệu trung hòa hoặc khử hoặc ức chế được 50% gốc tự do

STT	Phương pháp	Mẫu thử	Phương trình hồi quy tuyến tính	Giá trị EC ₅₀ hoặc Abs _{0,5} (µg/mL)
1	ABTS ^{•+}	Thân lá rau dệu	$y=0,6522x + 12,241$ ($R^2=0,9956$)	57,90 ^b ±0,56
		Lá rau dệu	$y=0,672x + 15,996$ ($R^2=0,9946$)	50,60 ^c ±0,29
		Thân rau dệu	$y=0,5844x + 4,0335$ ($R^2=0,9971$)	78,66 ^a ±1,22
		Vitamin C	$y=17,938x + 3,3622$ ($R^2=0,9971$)	2,60 ^d ±0,01
2	DPPH	Thân lá rau dệu	$y=0,4915x + 14,034$ ($R^2=0,9962$)	73,18 ^b ±1,04
		Lá rau dệu	$y=0,6269x + 9,9644$ ($R^2=0,9977$)	63,86 ^c ±0,73
		Thân rau dệu	$y = 0,4958x + 11,715$ ($R^2=0,9954$)	77,22 ^a ±0,88
		Vitamin C	$y=64,285x + 8,5782$ ($R^2=0,9944$)	0,64 ^d ±0,01
3	NO [•]	Thân lá rau dệu	$y=0,4517x + 13,585$ ($R^2=0,9976$)	80,62 ^b ±0,38
		Lá rau dệu	$y=0,5311x + 11,024$ ($R^2=0,9918$)	73,39 ^c ±0,89
		Thân rau dệu	$y=0,4005x + 11,334$ ($R^2=0,9971$)	96,54 ^a ±4,06
		Vitamin C	$y=0,7342x + 5,7762$ ($R^2=0,9948$)	60,24 ^d ±0,97
4	FRAP	Thân lá rau dệu	$y=0,0042x + 0,0981$ ($R^2=0,9974$)	95,69 ^b ±0,71
		Lá rau dệu	$y=0,0052x + 0,1029$ ($R^2=0,9979$)	76,37 ^c ±1,16
		Thân rau dệu	$y=0,0037x + 0,0978$ ($R^2=0,9963$)	108,70 ^a ±1,27
		Vitamin C	$y=1,9755x + 0,084$ ($R^2=0,9994$)	0,21 ^d ±0,00
5	TAC	Thân lá rau dệu	$y=0,0056x + 0,1002$ ($R^2=0,9933$)	71,39 ^b ±1,08
		Lá rau dệu	$y=0,0055x + 0,2119$ ($R^2=0,9875$)	52,38 ^c ±0,17
		Thân rau dệu	$y=0,0051x + 0,0887$ ($R^2=0,9939$)	80,65 ^a ±2,23
		Vitamin C	$y=0,0112x - 0,0478$ ($R^2=0,9912$)	47,14 ^d ±0,33
6	RBCs	Thân lá rau dệu	$y=0,3198x + 16,927$ ($R^2=0,9977$)	103,42 ^b ±2,39
		Lá rau dệu	$y=0,3319x + 17,534$ ($R^2=0,9993$)	97,82 ^c ±0,78
		Thân rau dệu	$y=0,2673x + 16,432$ ($R^2=0,9952$)	125,58 ^a ±7,12
		Diclofenac	$y=0,3547x+16,715$ ($R^2=0,9923$)	93,84 ^d ±1,16
7	BSA	Thân lá rau dệu	$y=0,5268x + 0,2277$ ($R^2 = 0,9982$)	94,48 ^b ±1,06
		Lá rau dệu	$y=0,5548x + 2,4379$ ($R^2 = 0,9965$)	85,75 ^c ±1,18
		Thân rau dệu	$y=0,421x + 1,8666$ ($R^2=0,9981$)	114,57 ^a ±6,00
		Diclofenac	$y=0,5421x + 1,8889$ ($R^2=0,9968$)	88,75 ^d ±0,72

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự (a, b, c, d) theo sau giống nhau trong cùng một phương pháp thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p>0,05$).

Khả năng kháng oxy của các cao chiết rau dệu được so sánh với nhau và so sánh với vitamin C bằng cách sử dụng nồng độ (µg/mL) mà tại đó cao chiết hay vitamin C khử hoặc trung hòa được 50% gốc tự do (Abs_{0,5} hoặc EC₅₀, được gọi chung là EC₅₀) được trình bày trong Bảng 2. Theo nghiên cứu của Wahyuningsih et al. (2020), mẫu thử có giá trị EC₅₀ thấp hơn 50 µg/mL là chất kháng oxy hóa rất mạnh; 50-100 µg/mL là chất kháng oxy hóa mạnh và 101-150 µg/mL là chất kháng oxy hóa trung bình trong khi chất kháng oxy hóa yếu có giá trị EC₅₀>150 µg/mL. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các cao chiết rau dệu có giá trị EC₅₀ ở các phương pháp kháng oxy hóa dao động từ 50,60±0,29 đến 108,70±1,27 µg/mL. Các cao chiết rau dệu được xác định là có khả năng kháng oxy hóa mạnh. Riêng cao chiết thân rau dệu cho thấy khả năng kháng oxy hóa trung bình ở phương pháp FRAP.

Các cao chiết rau dệu có khả năng bảo vệ RBCs và ức chế sự biến tính BSA với giá trị IC₅₀ dao động từ 85,75±1,18 đến 125,58±7,12 µg/mL. Cao chiết lá rau dệu (EC₅₀=97,82±0,78 µg/mL) và cao chiết thân lá rau dệu (EC₅₀=103,42±2,39 µg/mL) có khả năng bảo vệ RBCs mạnh hơn cao chiết thân rau dệu (EC₅₀=125,58±7,12 µg/mL) lần lượt là 1,28 và 1,21 lần. Cao chiết lá rau dệu (EC₅₀=85,75±1,18 µg/mL) và cao chiết thân lá rau dệu (EC₅₀=94,48±1,06 µg/mL) có hoạt tính ức chế sự biến tính BSA mạnh hơn cao chiết thân rau dệu (EC₅₀=114,57±6,00 µg/mL) lần lượt là 1,34 và 1,21 lần.

Hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm *in vitro* của các cao chiết rau dệu ở tất cả các phương pháp khảo sát đều tăng dần theo thứ tự là cao chiết thân rau dệu<cao chiết thân lá rau dệu<cao chiết lá rau dệu, kết quả này có sự tương đồng với hàm lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid trong từng cao chiết đã phân tích ở trên (mục 3.1). Từ đó cho thấy,

hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm *in vitro* của các cao chiết rau dệu có phụ thuộc vào hàm lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra các hợp chất thuộc nhóm polyphenol, flavonoid và alkaloid có khả năng kháng oxy hóa và kháng viêm mạnh mẽ. Các hợp chất thuộc nhóm polyphenol, flavonoid và alkaloid có khả năng cung cấp cho các gốc tự do điện tử hoặc khử phức chất gây độc về trạng thái ổn định, không gây độc hoặc gây độc ít hơn cho các đại phân tử sinh học trong cơ thể.

3.3. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết rau dệu

Các cao chiết rau dệu tạo được đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 0 đến 23,17±0,76 mm (Bảng 3). Trong đó, cao chiết thân lá và cao chiết lá rau dệu thể hiện hoạt tính kháng dòng vi khuẩn *Listeria innocua* và *Staphylococcus aureus* mạnh hơn các dòng vi khuẩn còn lại với đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 21,13±1,21 đến 23,17±0,76 mm tại nồng độ 2.000 µg/mL. Cao chiết thân lá rau dệu và cao chiết lá rau dệu cho thấy sự hiện diện của vòng kháng khuẩn trong dãy nồng độ được khảo sát. Riêng đối với cao chiết thân rau dệu, không có sự xuất hiện của vòng kháng khuẩn ở nồng độ khảo sát từ 125 đến 2.000 µg/mL. Do đó, ở các khảo sát tiếp theo đã tập trung khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết thân lá rau dệu và cao chiết lá rau dệu. Nồng độ ức chế tối thiểu của cao chiết thân lá rau dệu và cao chiết lá rau dệu được xác định dựa vào phản ứng màu của thuốc thử resazurin trình bày như trong Hình 5. Kết quả khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu được trình bày trong Bảng 4. Cao chiết thân lá rau dệu và cao chiết lá rau dệu có nồng độ ức chế tối thiểu dao động từ 1.000 đến 2.000 µg/mL và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu dao động từ 2.000 đến 4.000 µg/mL

đối với các dòng vi khuẩn Gram âm. Trong khi đó, cao chiết thân lá rau dệu và cao chiết lá rau dệu có nồng độ ức chế tối thiểu dao động từ 250 đến 500 µg/mL và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu dao động từ 500 đến 1.000 µg/mL đối với các dòng vi khuẩn Gram dương. Như vậy, các cao chiết rau dệu có hoạt tính kháng các dòng vi khuẩn Gram dương mạnh hơn các dòng vi khuẩn Gram âm. Nguyên nhân có thể là do vi khuẩn Gram dương có vách tế bào được cấu tạo chủ yếu peptidoglycan còn vi khuẩn Gram âm có vách tế bào gồm một lớp mỏng peptidoglycan và có màng ngoài có lipopolysaccharid bao phủ. Các cao chiết rau dệu đều có thể kháng được các dòng vi khuẩn cần tiếp xúc được với màng tế bào, nhưng do màng tế bào của vi khuẩn Gram âm được che chở bởi lớp lipopolysaccharid do đó khó bị ức chế hơn. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, lá rau dệu có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn thân lá rau dệu và thân rau dệu. Kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu của Michel et al. (2012). Kết quả nghiên cứu của Michel et al. (2012) cho thấy cao chiết từ lá *Hippophaë rhamnoides* có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn cao chiết từ thân *Hippophaë rhamnoides*. Nghiên cứu của Ahuja et al. (2012) cũng cho thấy các chất có hoạt tính kháng khuẩn thường tập trung ở lá cao hơn ở thân. Kết quả nghiên cứu của Kota et al. (2017) cho thấy các cao chiết từ phần trên mặt đất của cây rau dệu trong các dung môi khác nhau có khả năng kháng các dòng vi khuẩn gây bệnh như *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Serratiasps*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Enterococcus sp.*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysentery* ở nồng độ ức chế tối thiểu dao động từ 18.750 µg/mL đến 75.000 µg/mL. Trong nghiên cứu này, cao chiết lá rau dệu có hoạt tính kháng khuẩn với nồng độ ức chế tối thiểu dao động từ 250 đến 1.000 µg/mL.

Bảng 3. Đường kính vòng kháng khuẩn của các cao chiết rau dệu và tetracyclin

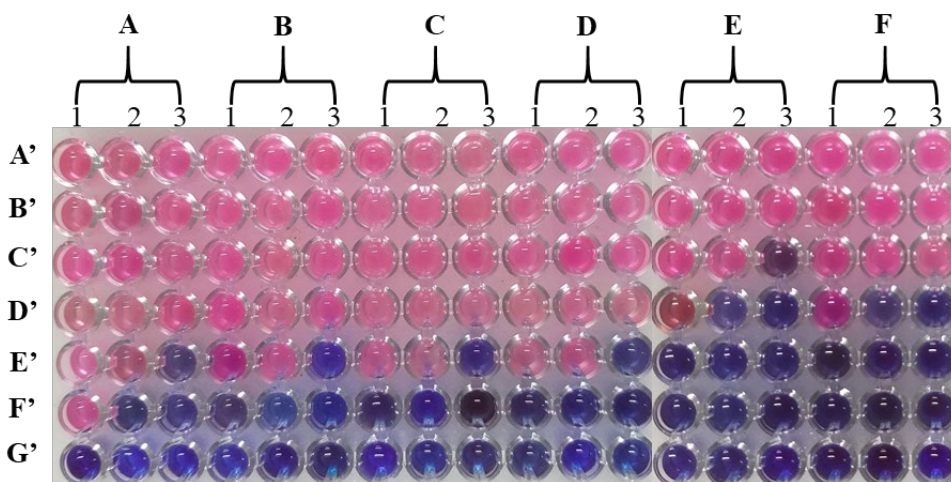
Dòng vi khuẩn	Cao chiết	Đường kính vòng kháng khuẩn ở các nồng độ (µg/mL) cao chiết khác nhau				
		125	250	500	1.000	2.000
<i>Salmonella typhi</i>	Thân lá rau dệu	-	-	-	-	8,43 ^a ±0,40
	Thân rau dệu	-	-	-	-	-
	Lá rau dệu	-	-	-	9,23 ^b ±0,25	11,17 ^a ±0,29
	Tetracyclin	-	-	30,90 ^c ±0,79	35,63 ^b ±0,15	41,73 ^a ±0,64
	Thân lá rau dệu	-	-	-	8,00 ^b ±0,20	10,27 ^a ±0,23

Dòng vi khuẩn	Cao chiết	Đường kính vòng kháng khuẩn ở các nồng độ (µg/mL) cao chiết khác nhau				
		125	250	500	1.000	2.000
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Thân rau dệu	-	-	-	-	-
	Lá rau dệu	-	-	-	8,80 ^b ±0,20	11,00 ^a ±0,20
	Tetracyclin	-	-	21,20 ^c ±1,11	32,57 ^b ±0,60	40,93 ^a ±0,90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Thân lá rau dệu	-	-	-	9,00 ^b ±0,20	10,40 ^a ±0,69
	Thân rau dệu	-	-	-	-	-
	Lá rau dệu	-	-	-	13,17 ^b ±0,29	19,23 ^a ±0,25
<i>Escherichia coli</i>	Tetracyclin	-	-	15,07 ^c ±0,31	25,33 ^b ±0,29	39,10 ^a ±0,36
	Thân lá rau dệu	-	-	-	14,70 ^b ±0,76	18,10 ^a ±0,36
	Thân rau dệu	-	-	-	-	-
<i>Listeria innocua</i>	Lá rau dệu	-	-	-	14,00 ^b ±2,00	19,67 ^a ±0,42
	Tetracyclin	-	-	16,73 ^c ±0,31	27,33 ^b ±0,29	45,40 ^a ±2,95
	Thân lá rau dệu	-	-	9,17 ^c ±0,29	17,37 ^b ±0,32	22,23 ^a ±0,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	Thân rau dệu	-	-	-	-	-
	Lá rau dệu	-	8,17 ^d ±0,29	10,97 ^c ±0,84	17,33 ^b ±0,29	21,13 ^a ±1,21
	Tetracyclin	26,67 ^b ±1,53	29,00 ^b ±1,00	33,00 ^a ±1,00	33,67 ^a ±0,58	35,33 ^a ±0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	Thân lá rau dệu	-	-	8,43 ^c ±0,40	14,60 ^b ±0,53	22,20 ^a ±0,20
	Thân rau dệu	-	-	-	-	-
	Lá rau dệu	-	8,43 ^d ±0,40	14,00 ^c ±1,00	17,60 ^b ±0,53	23,17 ^a ±0,76
	Kháng sinh	Đường kính vòng kháng vi khuẩn ở các nồng độ (µg/mL) tetracyclin khác nhau				
Tetracyclin		10	20	40	80	160
		-	-	14,50 ^c ±0,50	23,33 ^b ±0,42	31,30 ^a ±0,27

Ghi chú: Các giá trị có ký tự theo sau trong cùng một hàng giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). “-” là không có khả năng ức chế.

Bảng 4. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Dòng vi khuẩn	Nồng độ ức chế tối thiểu (µg/mL)			Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (µg/mL)		
	Thân lá	Lá	Tetracyclin	Thân lá	Lá	Tetracyclin
<i>Salmonella typhi</i>	2.000	1.000	500	4.000	2.000	1.000
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1.000	1.000	500	2.000	2.000	1.000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.000	1.000	500	2.000	2.000	1.000
<i>Escherichia coli</i>	1.000	1.000	500	2.000	2.000	1.000
<i>Listeria innocua</i>	500	250	125	1.000	500	250
<i>Staphylococcus aureus</i>	500	250	20	1.000	500	40



Hình 5. Màu sắc của resazurin dưới sự tác động của các dòng vi khuẩn và mẫu thử

Ghi chú: A. *Salmonella typhi*; B. *Vibrio parahaemolyticus*; C. *Pseudomonas aeruginosa*; D. *Escherichia coli*; E. *Listeria innocua*; F. *Staphylococcus aureus*.

1 là cao thân lá rau dệu; 2 là cao lá rau dệu; 3 là tetracyclin.

A' là vi khuẩn; B' là vi khuẩn + DMSO (dung môi hòa tan mẫu thử); C', D', E', F' và G' lần lượt là vi khuẩn + mẫu thử nồng độ 125, 250, 500 và 1.000 và 2.000 µg/mL. Riêng cao chiết lá rau dệu, dòng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (F2) được thử ở dãy nồng độ 31,25, 62,5, 125, 250 và 500 µg/mL; kháng sinh tetracyclin, dòng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (F3) được thử ở dãy nồng độ 10, 20, 40, 80 và 160 µg/mL.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã điều chế và xác định được hàm lượng polyphenol, flavonoid, alkaloid, hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng khuẩn của các cao chiết rau dệu. Kết quả nghiên cứu cho thấy các loại cao chiết từ rau dệu có hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm. Các cao chiết rau dệu có khả năng ức chế các dòng vi khuẩn Gram dương mạnh hơn các dòng vi khuẩn Gram âm. Hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng khuẩn của cao chiết lá rau dệu tốt hơn các cao chiết còn lại. Điều này phụ thuộc vào hàm lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid có

trong từng loại cao chiết. Hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng khuẩn cho thấy tiềm năng sử dụng các cao chiết rau dệu trong chăm sóc sức khỏe.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ kinh phí thực hiện đề tài này. Kết quả nghiên cứu của đề tài này thuộc đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở do viên chức thực hiện của trường Đại học Cần Thơ với mã số đề tài là T2023-16.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahuja, I., Kissen, R., & Bones, A. M. (2012). Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends in Plant Science*, 17, 73–90. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.11.002>.
- Bag, G. C., Devi, P. G., & 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. <http://globalresearchonline.net/journalcontents/v30-1/28.pdf>.
- Benzie, L. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Bộ Y Tế (2018). *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học.
- Dissanayake, D. M. R. H., Deraniyagala, S. A., Hettiarachchi, C. M., & Thiripuranathar, G. (2018). The study of antioxidant and antibacterial properties of skin, seeds and leaves of the sri lankan variety of pumpkin. *International Organization of Scientific Research*, 8(2), 43-48.
- Heinrich, M., Mah, J., & Amirkia, V. (2021). Alkaloids used as medicines: Structural phytochemistry meets biodiversity-an update and

- forward look. *Molecules*, 26(7), 1-18.
<https://doi.org/10.3390/molecules26071836>.
- Jan, R., Asaf, S., Numan, M., & Lubna Kim, K. -M. (2021). Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. *Agronomy*, 11, 968-999. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050968>.
- Kota, S., Govada, V. R., Anantha, R. K., & Verma, M. K. (2017). An investigation into phytochemical constituents, antioxidant, antibacterial and anti-cataract activity of *Alternanthera sessilis*, a predominant wild leafy vegetable of South India. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10, 197-203. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.03.008>.
- Michel, T., Destandau, E., Le Floch, G., Lucchesi, M. E., & Elfakir, C. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry*, 131(3), 754-760.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.029>.
- Miyamoto, A., Nakano, S., Nagai, K., Kishikawa, N., Ohyama, K., Aoyama, T., Matsumoto, Y., & Kuroda, N. (2017). Development of an evaluation method for hydroxyl radical scavenging activities using sequential injection analysis with chemiluminescence detection. *Analytical Sciences*, 33(6), 697-701. DOI: 10.2116/analsci.33.697.
- Razali, M. N. N., Teh, S. S., Mah, S. H., Yong, Y. K., Ng, C. T., Lim, Y. M., & Fong, L.Y. (2022). Protective effects of *Alternanthera sessilis* ethanolic extract against TNF- α or H₂O₂-induced endothelial activation in human aortic endothelial cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 8738435, 1-12.
<https://doi.org/10.1155/2022/8738435>.
- Muniandy, K., Gothai, S., Badran, K. M. H., Kumar, S. S., Esa, N. M., & Arulselvan, P. (2018b). Suppression of proinflammatory cytokines and mediators in LPS-induced RAW 264.7 macrophages by stem extract of *Alternanthera sessilis* via the inhibition of the NF- κ B pathway. *Journal of Immunology Research*, 2018, 1-12.
<https://doi.org/10.1155/2018/3430684>.
- Muniandy, K., Gothai, S., Tan, W. S. (2018a). *In vitro* wound healing potential of stem extract of *Alternanthera sessilis*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2018/3142073>.
- Nascimento, G. G. F., 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>.
- Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. I. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS⁺ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4669-4674.
<https://doi.org/10.1021/jf0400056>.
- Ngan, L. T., Moon, J. K., Kim, J. H., Shibamoto, T., & Ahn, Y. J. (2012). Growth-inhibiting effects of *Paeonia lactiflora* root steam distillate constituents and structurally related compounds on human intestinal bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1575-1583. DOI: 10.1007/s11274-011-0961-6.
- Phụng, N. K. P. (2007). *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh.
- Patel, M., Murugananthan, S., & Gowda, S. (2012). *In vivo* animal models in preclinical evaluation of anti-inflammatory activity-a review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 1(2), 1-5.
<https://doi.org/10.3390/ijms20184367>.
- Hộ, P. H. (2000). *Cây cỏ Việt Nam*. Nhà xuất bản Trẻ, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., & Moreira, M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 294-300.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.02.013>.
- Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: Specific application for the determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341.
<https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>.
- Chaity, F. R., Khatun, M., & Rahman, M.S. (2016). *In vitro* membrane stabilizing, thrombolytic and antioxidant potentials of *Drynaria quercifolia* L., a remedial plant of the Garo tribal people of Bangladesh. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 16, 184-193. DOI: 10.1186/s12906-016-1170-5.
- Shah, M., Parveen, Z., Khan, M. R. (2017). Evaluation of antioxidant, antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of the stem bark of *Sapindus mukorossi*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 526-532. DOI: 10.1186/s12906-017-2042-3.
- Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., & Verdianrizi, M. (2008). Short report spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian

- medicinal plants. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32, 17-20.
<https://www.thaiscience.info/journals/Article/TJPS/10576423.pdf>.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113, 1202-1205.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*, 299, 152-178.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Sreejayan, N. & Rao, M. N. A. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49, 105-107.
 DOI: 10.1111/j.2042-7158.1997.tb06761.x.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines (Basel)*, 5(3), 93-109. DOI: 10.3390/medicines5030093.
- Twajj, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology*, 13, 4-14.
<https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>.
- Ullah, H. M., Zaman, S., Juhara, F., Akter, L., Tareq, S. M., Masum, E. H., & Bhattacharjee, R. (2014). Evaluation of antinociceptive, *in-vivo* & *in-vitro* anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* rhizome. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 346-354. DOI: 10.1186/1472-6882-14-346.
- Wahyuningsih, S. P. A., Savira, N. I. I., Anggraini, D. W., Winarni, D., Suhargo, L., Kusuma, B. W. A., & Mwendolwa, A. A. (2020). Antioxidant and nephroprotective effects of okra pods extract (*Abelmoschus esculentus* L.) against lead acetate-induced toxicity in mice. *Scientifica*, 2020, 1-10. DOI: 10.1155/2020/4237205.