

IN VITRO ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *ASARUM CORDIFOLIUM*

Pham Thi Hong Minh^{1,2}, Le Van Dat³, Nguyen Le Quan³, Thi Van Duy³,
 Nguyen Thuong Tuan⁴, Do Tien Lam^{1,2*}

¹Institute of Natural Products Chemistry – VAST, ²Graduate University of Science and Technology - VAST

³Lam Son High School for the Gifted, ⁴TNU - University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO		ABSTRACT
Received:	22/3/2022	<i>Asarum cordifolium</i> was used to bath medicine for back pain, treat an infected wound, hemorrhoids treatment for traditional medical remedies made by Red Dao people in Lao Cai province. In this study, the anti-inflammatory effect and inhibition of nitric oxide production and antimicrobial activities on 11 strains of bacteria and fungus of the extract of crude ethanol (ACM), ethyl acetate (ACE), and water (ACW) of <i>Asarum cordifolium</i> were tested. The results are shown as follows: The ACM extract showed potent anti-inflammatory activity with IC₅₀ value of 6.21 µg/ml and exhibited the best antimicrobial activity with MIC value of 100 µg/mL (for <i>Phytophthora infestans</i> and <i>Collectotrichum phomoides</i>). The ACE fraction exhibited anti-inflammatory activity with IC₅₀ value of 16.66 µg/ml and exhibited the best antimicrobial activity on <i>Phytophthora infestans</i> with a MIC value of 150 µg/mL. This result has contributed to guide further studies on the chemical composition and biological activity of the extracts and isolated compounds from <i>Asarum cordifolium</i>.
Revised:	05/8/2022	
Published:	05/8/2022	
KEYWORDS		
<i>Asarum cordifolium</i>		
Anti-inflammatory		
Antimicrobial		
IC ₅₀ value		
MIC value		

HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM VÀ KHÁNG VI SINH VẬT *IN VITRO* CỦA CÁC CẶN CHIẾT CÂY TẾ TÂN LÁ HÌNH TIM (*ASARUM CORDIFOLIUM*)

Phạm Thị Hồng Minh^{1,2}, Lê Văn Đạt³, Nguyễn Lê Quân³, Thi Văn Duy³,
 Nguyễn Thương Tuấn⁴, Đỗ Tiến Lâm^{1,2*}

¹Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên – VAST, ²Học viện Khoa học và Công nghệ - VAST,

³Trường THPT Chuyên Lam Sơn – Thanh Hóa, ⁴Trường Đại học Nông Lâm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO		TÓM TẮT
Ngày nhận bài:	22/3/2022	Tế tân lá hình tim (<i>Asarum cordifolium</i>) được người Dao Đỏ ở Lào Cai sử dụng làm thuốc tắm trị đau lưng, nhiễm trùng vết thương và trị bệnh trĩ. Trong nghiên cứu này, hoạt tính <i>in vitro</i> kháng viêm thông qua ức chế sản sinh NO và kháng 11 chủng vi khuẩn và nấm của cặn chiết tổng (ACM), các cặn chiết phân đoạn ethyl acetate (ACE) và nước (ACW) của loài <i>Asarum cordifolium</i> đã được thử nghiệm. Kết quả cho biết, cặn chiết ACM thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt nhất với giá trị IC₅₀ 6,21 µg/ml và kháng 2 chủng vi sinh vật (<i>Phytophthora infestans</i> và <i>Collectotrichum phomoides</i>) tốt nhất với giá trị MIC 100 µg/mL. Phân đoạn ACE biểu hoạt tính kháng viêm với giá trị IC₅₀ 16,66 µg/ml và kháng chủng <i>Phytophthora infestans</i> tốt nhất với giá trị MIC 150 µg/mL. Kết quả này định hướng cho các nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các cao chiết và các chất sạch phân lập được từ cây Tế tân lá hình tim.
Ngày hoàn thiện:	05/8/2022	
Ngày đăng:	05/8/2022	
TỪ KHÓA		
<i>Asarum cordifolium</i>		
Kháng viêm		
Kháng vi sinh vật		
Giá trị IC ₅₀		
Giá trị MIC		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5743>

* Corresponding author. Email: dotienlam198@gmail.com

1. Giới thiệu

Các thực vật chi *Asarum* L. thuộc họ Mộc hương (Aristolochiaceae) đã được sử dụng rộng rãi trong y học dân tộc Hy Lạp cổ đại, châu Âu thời trung cổ, Ấn Độ, Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản và Mỹ. Nước sắc của cây *Asarum europaeum* được dùng chữa các bệnh về phổi: bụi phổi, viêm phế quản, hen phế quản, viêm phổi, viêm đường hô hấp cấp tính, lao phổi, đau nửa đầu, sốt, sốt rét, bệnh gút, thấp khớp, cổ chướng [1], [2].

Tinh dầu từ rễ khô cây *Asarum caudatum* được dùng trong công nghiệp sản xuất nước hoa. Người da đỏ ở California đã sử dụng nước sắc của rễ cây *Asarum caudatum* trị mất ngủ, lo lắng, cuồng loạn, sốt, các bệnh về catarrhal, khó tiêu và đau ruột. Nó cũng được sử dụng làm thuốc điều hòa, giảm đau và thuốc bổ. Lá xông hơi dùng để chữa mụn nhọt, nhiễm trùng da, đau răng, đắp vào rốn trẻ sơ sinh để tránh nhiễm trùng. Nước sắc của lá và toàn cây được dùng để rửa vết thương và vết loét, điều trị bệnh thấp khớp, nhức đầu, đau ruột và khớp. Ngoài ra, lá của nó được người bản địa Mỹ dùng như trà [1], [2].

Tinh dầu phần trên mặt đất của *Asarum heterotropoides* được sử dụng để điều trị cảm lạnh, làm thuốc giảm đau, chống ho và chống dị ứng. Rễ được dùng để chữa nhức đầu, đau răng, ho, cảm lạnh, viêm xoang và đau khớp do thấp khớp [1].

Tinh dầu từ phần dưới mặt đất của loài *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Micrococcus luteus*, *Corynebacterium jeikeium* và *Corynebacterium xerosis* và ức chế sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Streptococcus* sp., *Shigella* sp. và *Salmonella typhi* [1]. Rễ và thân của *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* là một trong những loại thuốc cổ truyền quan trọng của Trung Quốc được sử dụng để điều trị ho, đau đầu, đau răng, thấp khớp, viêm miệng, gây tê tại chỗ và các bệnh viêm [3].

Tinh dầu từ rễ của loài *Asarum sieboldii* biểu hiện hoạt tính diệt nấm *Neolentinus lepideus*. Chiết xuất ete dầu và tinh dầu từ rễ của *Asarum heterotropoides* và *Asarum sieboldii* có tác dụng diệt ký sinh trùng da *Dermatophagoides pteronyssinus*. Tinh dầu từ rễ và lá *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* có hoạt tính chống và xua đuổi bọ thuốc lá *Lasioderma serricorne* và một gổ *Liposcelis bostrychophila*. Tinh dầu rễ loài *Asarum sieboldii* kháng bọ thuốc lá *Lasioderma serricorne* và một gao *Sitophilus oryzae*. Tinh dầu rễ *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* chống trầm cảm tốt trong thử nghiệm *in vivo* trên chuột [1]. Một vài kết quả nghiên cứu về hóa học và dược lý loài *Asarum heterotropoides* đã cho biết một số chất chuyển hóa thứ cấp, bao gồm tinh dầu, monoterpen, lignan, alkaloid và phenyl propanoid, thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, chống ung thư, chống viêm và kháng nấm [4].

Tế tân lá hình tim hay Tế tân lá tim (*Asarum cordifolium* C. E. C. Fischer) thuộc Chi Tế tân (*Asarum* L.). Loài thực vật này đã được ghi nhận ở Việt Nam bởi nhà thực vật học Nguyễn Anh Tuấn năm 2012 [5]. Cây ưa ẩm, ưa sáng, thường mọc thành đám dọc theo đường mòn, dưới tán rừng thảo quả. Phân bố chủ yếu ở Lào Cai (Bản Khoang, Bải Rác, Tả Phìn, Tả Van, Cát Cát - Sa Pa). Còn gặp ở phía Nam Himalayan, Assam (Ấn Độ) và Bắc Myanma. Trong y học cổ truyền dân tộc, người Dao Đỏ (Sa Pa, Lào Cai) sử dụng làm thuốc tắm trị đau lưng, nhiễm trùng vết thương và trị bệnh trĩ.

Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu loài *Asarum cordifolium* ở Việt Nam [6] cho biết: Tinh dầu của loài *Asarum cordifolium* chứa 26 cấu tử chiếm 96,4% tổng hàm lượng tinh dầu. Thành phần chính có trong tinh dầu là elemicin (84,38%) và methyl eugenol (3,63%). Kết quả nghiên cứu về tinh dầu loài *Asarum cordifolium* của nhóm tác giả Trần Huy Thái và cộng sự [7] cho thấy: Tinh dầu loài *Asarum cordifolium* có chứa 23 cấu tử, chiếm 96,5% tổng hàm lượng tinh dầu. Trong đó các hợp chất phenylpropanoid chiếm gần 90% tổng số. Elemicin là thành phần chính (82,5%), tiếp theo là methyleugenol (6,2%). (*E*)-iso-elemicin cũng được phát hiện có trong tinh dầu 0,9%. Ngoài ra, cũng phát hiện được các hydrocacbon monoterpen khác nhau (mỗi loại 1,3%) hoặc monoterpen oxy ở dạng vết hay có hàm lượng thấp.

Ngoài ra, các nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học loài Tế tân lá hình tim (*Asarum cordifolium*) hầu như chưa có công trình nào nghiên cứu. Như vậy, Tế tân lá hình tim là nguồn hoạt tính quý giá giúp các nhà khoa học có định hướng nghiên cứu sâu hơn về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học. Trong nghiên cứu này sẽ trình bày về hoạt tính kháng viêm và hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định *in vitro* của căn chiết tổng và các căn chiết phân đoạn của loài này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây Tế tân lá hình tim thu hái tại Sapa – Lào Cai vào tháng 09 năm 2020, được TS. Nguyễn Anh Tuấn, Viện Sinh học và môi trường Đông Dương xác định tên khoa học là *Asarum cordifolium* C. E. C. Fischer, họ Aristolochiaceae. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Dung môi, hóa chất và thiết bị

Dung môi, hóa chất: *n*-hexan, etyl axetat, metanol, etanol, axit sunfuric đặc, bản mỏng silica gel (20x20 cm).

Thiết bị: máy cô quay chân không EYELA (Nhật), máy siêu âm S100H (Đức), tủ sấy CHINA 101-1A và cân kỹ thuật PA214C (Philippines).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xử lý mẫu

Mẫu phần trên mặt đất cây Tế tân lá hình tim được thái nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khi khối lượng không đổi và được đem xay nhỏ. Mẫu trên được ngâm 3 lần với dung môi ethanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết tổng thu được được cất kiệt dung môi, thu được căn chiết tổng ethanol. Căn chiết tổng ethanol (CC) được bổ sung thêm ít nước và chiết lần lượt với dung môi ethyl acetate thu được căn chiết phân đoạn tương ứng là ethyl acetate và nước. Quá trình chiết mẫu Tế tân lá hình tim được trình bày chi tiết như trong hình 1.

2.3.2. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính *in vitro*

❖ Phương pháp thử hoạt tính kháng viêm [8]

Hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) trên tế bào RAW264.7

Vật liệu, hóa chất:

Tế bào RAW264.7 cung cấp bởi ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA).

Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), Griess reagent, LPS (lipopolysaccharide) được mua từ nguồn Sigma-Aldrich (nay là Merck KGaA, Darmstadt, CHLB Đức) Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA).

Tiến hành:

Tế bào RAW264.7 được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường DMEM ở 37°C, 5% CO₂, 10% FBS. Sau đó dịch tế bào được chuyển lên giếng phiên 96 với mật độ 2,5 x 10⁵ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với 2 µL LPS (0,1 mg/mL) trong 24 giờ và bổ sung thuốc/chất thử các nồng độ khác nhau. Cardamonin được sử dụng làm đối chứng (+). Dịch huyền phù của tế bào được ủ với thuốc thử Griess, NaNO₂ ở các nồng độ khác nhau để xây dựng đường chuẩn. Đo hỗn hợp phản ứng ở λ = 570 nm.

Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%) được xác định theo công thức:

$$\%UC = ([X_{TB}]_{mẫu} - [X_{TB}]_{LPS}) / ([X_{TB}]_{ĐC} - [X_{TB}]_{LPS}) \times 100$$

Trong đó: [X_{TB}] là nồng độ NO trung bình tính dựa trên đường chuẩn NaNO₂.

Phần tế bào còn lại sau khi đã sử dụng để đánh giá các hoạt tính *in vitro* được bổ sung dung dịch MTT (0,5 mg/mL trong PBS), ủ 4 giờ trong tủ ấm 5% CO₂ ở 37°C. Sản phẩm chuyển hóa dạng tinh thể formazan được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich) và đo mật độ quang ở $\lambda = 540/720$ nm trên thiết bị Infinite F50 (Tecan, Männedorf, Thụy Sĩ). Tỷ lệ sống sót của tế bào CS% (Cell survival) tính theo % so với đối chứng:

$$\text{Tỷ lệ ức chế tế bào (\%)} = [(\text{OD}_{[\text{mẫu}]} / \text{OD}_{[\text{đối chứng (-)}]}) \times 100] \pm \sigma$$

$$\text{Độ lệch chuẩn được tính theo công thức: } \sigma = \sqrt{(\sum (xi - \bar{x})^2) / (n - 1)}$$

❖ **Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật** [9]

Chủng vi sinh vật:

Vi khuẩn Gr(-): *Escherichia coli*

Pseudomonas aeruginosa

Vi khuẩn Gr(+): *Bacillus subtilis*

Staphylococcus aureus

Nấm sợi (mốc): *Aspergillus niger*

Fusarium oxysporum

Nấm men: *Candida albicans*

Saccharomyces cerevisiae

Nấm: *Phytophthora infestans*

Pseudocercospora fuligena

Collectotrichum phomoides

Chủng chuẩn (nguồn ATCC, Manassas, Mỹ) được lưu giữ tại phòng Sinh học thực nghiệm (Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên).

Pha dịch vi sinh vật: Dùng que cấy vô trùng lấy 1 quai khuẩn lạc của chủng vi sinh vật pha hòa tan vào 10 mL nước muối sinh lý vô trùng và trộn đều bằng máy trộn vortex được huyền dịch vi sinh vật. Đánh giá nồng độ vi sinh vật bằng cách so sánh với chuẩn 0,5 McFarland (đo ở $\lambda=550$ nm) được huyền dịch nồng độ 150×10^6 CFU/mL.

Môi trường: Saboraud 4% Dextrose Agar (SDA; Merck, Damstaadt, CHLB Đức) cho nấm men và nấm mốc. Tryptic Soy Agar (TSB-Merck) cho vi khuẩn.

Kháng sinh chuẩn:

- Gentamycin cho vi khuẩn Gr(-), doxycyclin cho vi khuẩn Gr(+) và nystatin cho nấm sợi và nấm men. Kháng sinh được cung cấp bởi Viện kiểm nghiệm Tp. HCM.

- Từ dung dịch mẹ, pha dung dịch gốc bằng nước cất vô trùng. Từ dung dịch gốc pha loãng $\frac{1}{2}$ đến nồng độ cần dùng: gentamycin (16 - 8 - 4 IU/mg), doxycyclin (0,4 - 0,2 - 0,1 IU/mg) và nystatin (12 - 6 - 3 IU/mg).

Thử nghiệm và đánh giá kết quả:

Pha mẫu với DMSO 10% trên phiên 96 giếng (template plate) theo nồng độ giảm dần (log2 cho 5 thang nồng độ). Nhỏ mẫu từ phiên template lên phiên 96 giếng (phiên test) và bổ sung dịch vi sinh vật để được dải nồng độ mẫu từ 200-100-50-25,5-12,5 $\mu\text{g/mL}$ (lặp lại 3 lần ở mỗi nồng độ) với mẫu thô (cao chiết) và 50-25-12,5-6,25 $\mu\text{g/mL}$ với mẫu chất tinh sạch. Để trong tủ ấm ở 37°C trong 24h đối với vi khuẩn và 30°C/48h đối với nấm.

Mẫu đối chứng: sử dụng NaCl 0,9% tương ứng với thể tích mẫu là mẫu chứng âm tính (-) và chứng dương tính (+) là các kháng sinh chuẩn.

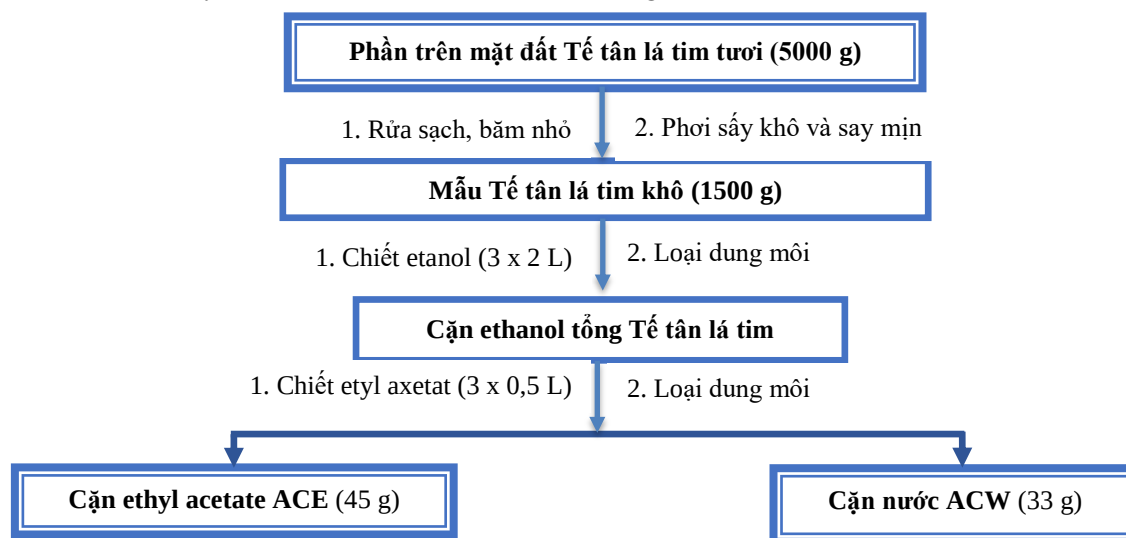
Mẫu được xác định có hoạt tính khi không có sự phát triển của vi sinh vật ở ít nhất một nồng độ mẫu thử nghiệm so với chứng (-) (khi nuôi cấy lại ở nồng độ này kiểm tra trên đĩa thạch giá trị CFU<5). Mẫu biểu hiện hoạt tính được test ở dãy nồng độ mẫu khác nhau để xác định được nồng độ ức chế tối thiểu MIC ($\mu\text{g/mL}$) là nồng độ thử nghiệm thấp nhất mà vi sinh vật bị ức chế.

Mẫu được xác định có hoạt tính khi giá trị MIC $\leq 200 \mu\text{g/mL}$ đối với mẫu cao chiết và $\leq 50 \mu\text{g/mL}$ đối với mẫu tinh sạch.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thu nhận cận dịch chiết

Mẫu sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi được 1200 g, đem nghiền nhỏ và ngâm chiết 3 lần với ethanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng thu được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ < 50°C thu được cận chiết tổng ethanol (AC; 65 g). Cận chiết ethanol tổng được thêm nước và chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexane, ethyl acetate, sau đó cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm thu được các cận tương ứng là *n*-hexane (ACH: 15 g), ethyl acetate (ACE: 20 g) và nước (ACW: 28 g). Việc thu nhận các cận chiết từ cây Tế tân lá hình tim được tóm tắt trong sơ đồ sau:



Hình 1. Sơ đồ thu nhận các dịch chiết từ cây Tế tân lá hình tim

3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học của cận chiết

3.2.1. Hoạt tính kháng viêm

Kết quả thử hoạt tính kháng viêm thông qua sự ức chế sinh ra NO kích thích bởi LPS trên đại thực bào RAW 264.7 của cận chiết tổng (ACM); và các cận chiết phân đoạn: ethyl acetate (ACE) và nước (ACW) từ phần trên mặt đất loài Tế tân lá hình tim được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thử khả năng ức chế sự sản sinh NO trên tế bào RAW 264.7

STT	Tên mẫu	Nồng độ mẫu	Tỷ lệ ức chế sinh NO (%)	Tỷ lệ tế bào sống sót (%)	Giá trị IC ₅₀
	Đối chứng (-)	-	100,0±1,3	104,76±0,15	
	Đối chứng (+):	0,3 µM	45,85±2,12	86,47±0,21	
	Cardamonin	3,0 µM	86,93±0,96	71,8±0,51	2,12 µM
	LPS	-	0,0±0,9	100,0±0,13	
1	ACM	50 µg/mL	99,09 ± 1,6	41,66 ± 0,52	
		25 µg/mL	82,23 ± 0,6	95,71 ± 1,38	6,21 µg/ml
2	ACE	50 µg/mL	98,86 ± 1,64	61,95 ± 1,36	
		25 µg/mL	70,68 ± 2,04	98,75 ± 0,61	16,66 µg/ml
3	ACW	50 µg/mL	28,53±1,12	73,43 ± 0,28	
		25 µg/mL	21,95 ± 0,66	90,01 ± 1,33	-

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, các cận dịch chiết của phần trên mặt đất cây Tế tân lá hình tim đều thể hiện hoạt tính ức chế đại thực bào RAW 264.7 sản sinh NO với các mức độ khác nhau ở các khoảng

nồng độ khảo sát ($p < 0,05$) với LPS đối chứng (-), đối chứng (+) là cardamonin. Nhìn chung của căn tổng ethanol (**ACM**) thể hiện hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế NO mạnh và tốt nhất (với giá trị IC_{50} 6,21 $\mu\text{g/ml}$), sau đó đến căn chiết phân đoạn ethyl acetate (**ACE**) thể hiện hoạt tính ở mức tốt (với giá trị IC_{50} 16,66 $\mu\text{g/ml}$), căn chiết nước (**ACW**) thể hiện hoạt tính ở mức thấp.

Căn chiết tổng **ACM** ở nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$ có khả năng ức chế sản sinh NO rất mạnh là $99,09 \pm 1,6\%$ và tỷ lệ tế bào sống sót tế bào là $41,66 \pm 0,52\%$; ở nồng độ 25 $\mu\text{g/ml}$ có khả năng ức chế sản sinh NO mạnh với tỷ lệ ức chế sinh NO $82,23 \pm 0,6\%$ và tỷ lệ tế bào sống sót tế bào là $95,71 \pm 1,38\%$; với IC_{50} là 6,21 $\mu\text{g/ml}$. Căn chiết **ACE** thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt với giá trị IC_{50} là 16,66 $\mu\text{g/ml}$. Ở nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$ có khả năng ức chế sản sinh NO rất mạnh là $98,86 \pm 1,64\%$ và tỷ lệ tế bào sống sót tế bào là $61,95 \pm 1,36\%$; ở nồng độ 25 $\mu\text{g/ml}$ có khả năng ức chế sản sinh NO mạnh với tỷ lệ ức chế sản sinh NO là $70,68 \pm 2,04\%$ và tỷ lệ tế bào sống sót tế bào là $98,75 \pm 0,61\%$.

Như vậy, hoạt tính kháng viêm của cây Tế tân lá hình tim (*Asarum cordifolium* C. E. C. Fischer) tập chung chủ yếu ở căn chiết tổng và phân đoạn ethyl acetate ít phân cực. Điều này phù hợp với một số nghiên cứu về hoạt tính kháng viêm của tinh dầu của các thực vật chi *Asarum* [2], [10] - [12].

3.2.2. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định trên 11 chủng (nấm và vi khuẩn: *Escherichia coli* (E.c), *Pseudomonas aeruginosa* (P.a), *Bacillus subtilis* (B.s), *Staphylococcus aureus* (S.a), *Aspergillus niger* (A.n), *Fusarium oxysporum* (F.o), *Candida albicans* (C.a), *Saccharomyces cerevisiae* (S.c), *Phytophthora infestans* (P.i), *Pseudocercospora fuligena* (P.f) và *Collectotrichum phomoides* (C.p)) của căn chiết tổng (**ACM**); và các căn chiết phân đoạn ethyl acetate (**ACE**) và nước (**ACW**) của loài *Asarum cordifolium* được thử nghiệm. Kết quả cho biết, căn chiết ethanol tổng (**ACM**) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm, tốt hơn so với căn chiết phân đoạn căn chiết etyl axetat (**ACE**) và căn nước (**ACW**). Căn chiết phân đoạn **ACE** thể hiện hoạt tính tốt hơn so với căn chiết **ACW**, điều đó cho biết các hợp chất thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm tập trung ở căn chiết **ACE**.

Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn của các căn chiết cây Tế tân lá hình tim

Ký hiệu	Nồng độ mẫu ($\mu\text{g/ml}$)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: $\mu\text{g/ml}$)										
		Vi khuẩn				Nấm						
		E.c	P.a	B.s	S.a	A.n	F.o	S.c	C.a	P.i	P.f	C.p
ACM	200	200	-	200	-	-	150	-	-	100	150	100
ACE	200	200	-	-	-	200	200	-	-	150	200	200
ACW	200	-	-	-	200	-	200	-	-	200	-	-

(-): không xác định (không biểu hiện hoạt tính tại nồng độ thử nghiệm)

Căn chiết tổng (**ACM**) thể hiện hoạt tính ức chế tốt đối với các chủng *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Phytophthora infestans*, *Pseudocercospora fuligena* và *Collectotrichum phomoides* với giá trị MIC 100-200 $\mu\text{g/mL}$. Căn chiết etyl axetat (**ACE**) ức chế tốt đối với các chủng *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans*, *Pseudocercospora fuligena* và *Collectotrichum phomoides* với giá trị MIC 150-200 $\mu\text{g/mL}$. Căn chiết nước (**ACE**) ức chế các chủng *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* và *Phytophthora infestans* với giá trị MIC 200 $\mu\text{g/mL}$. Các trường hợp còn lại không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm. Kết quả thử hoạt tính được thể hiện như bảng 2.

4. Kết luận

Từ phần trên mặt đất của loài (*Asarum cordifolium* C. E. C. Fischer) đã tiến hành xử lý và chiết mẫu khô (1500g) thu nhận được các căn chiết, trong đó căn chiết tổng ethanol (**ACM**: 80g), ethyl acetate (**ACE**: 45g) và nước (**ACW**: 33g).

Kết quả tác dụng sinh học của các mẫu thử nghiệm cho biết cận chiết tổng **ACM** của loài *Asarum cordifolium* thể hiện hoạt tính tốt nhất đối với các dòng hoạt tính thử nghiệm: kháng viêm (với giá trị IC_{50} 6,21 $\mu\text{g/ml}$) và kháng vi sinh vật kiểm định (ức chế chủng *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Phytophthora infestans*, *Pseudocercospora fuligena* và *Collectotrichum phomoides* với giá trị MIC 100-200 $\mu\text{g/mL}$). Ethyl acetate (**ACE**) là phân đoạn thể hiện hoạt tính tốt nhất đối với các dòng thử nghiệm: kháng viêm (với giá trị IC_{50} 16,66 $\mu\text{g/ml}$) và kháng vi sinh vật kiểm định (ức chế chủng *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans*, *Pseudocercospora fuligena* và *Collectotrichum phomoides* với giá trị MIC 150-200 $\mu\text{g/mL}$). Phân đoạn nước (**ACW**) thể hiện hoạt tính ở mức trung bình. Kết quả này định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính sinh học của cao chiết và các chất sạch phân lập được.

Lời cảm ơn

Công trình này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED). Mã số 104.01-2019.317.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] C.-T. Lu and J.-C. Wang, "Three new species of *Asarum* (section *Heterotropa*) from Taiwan," *Taiwania*, vol. 50, pp. 229-240, 2009.
- [2] A. M. Antsyshkina, Y. V. Ars, D. O. Bokov, N. A. Pozdnyakova, T. V. Prostodusheva, and S. G. Zaichikova, "The Genus *Asarum* L.: A Phytochemical and Ethnopharmacological Review," *Sys. Rev. Pharm.*, vol. 11, no. 5, pp. 472-502, 2020.
- [3] A. S. M. T. Haque, J. N. Moon, P. S. Saravana, A. Tilahun, and B.-S. Chun, "Composition of *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* radix oil from different extraction methods and activities against human body odor-producing bacteria," *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 24, pp. 813-821, 2016.
- [4] H. H. Yu, S. J. Seo, J. M. Hur, H. S. Lee, Y. E. Lee, and Y. Yo, "*Asarum sieboldii* extracts attenuate growth, acid production, adhesion, and water-insoluble glucan synthesis of *Streptococcus mutans*," *J. Med. Food*, vol. 9, pp. 505-509, 2006.
- [5] A. T. Nguyen, H. T. Tran, J.-C. Wang, and C.-T. Lu, "A new record of species *Asarum cordifolium* C. E. C. Fischer," *Journal of Biology*, vol. 34, no. 2, pp. 197-200, 2012.
- [6] H. T. Tran, T. H. Nguyen, M. H. Tran, A. T. Nguyen, T. D. Nguyen, and T. H. Nguyen, "Chemical composition of essential oil from some species of *Asarum* L. genus in Vietnam," *Journal of Biology*, vol. 35, no. 1, pp. 55-60, 2013.
- [7] H. T. Tran, O. Bazzali, M. H. Tran, A. T. Nguyen, F. Tomi, J. Casanova, and A. Bighelli, "Chemical Composition of the Essential Oils from Two Vietnamese *Asarum* Species: *A. glabrum* and *A. cordifolium*," *Natural Product Communications*, vol. 8, no. 2, pp. 235-238, 2013.
- [8] F. Amano, "Inhibitory Effects of Hydrolyzable Tannis from *Melastoma dodecandrum* Lour. on Nitric Oxide Production by a Murine Macrophage-Like Cell Line, RAW264.7, Activated with Lipopolysaccharide and Interferon- γ ," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 2, no. 6, pp. 647-653, 1999.
- [9] V. A. Berghe and A. J. Vlietinck, "Screening methods for Antibacterial and Ativiral Agent from Higher Plants," *Methods in Plant biochemistry*, vol. 6, pp. 47-68, 1991.
- [10] P. S. Baghel and D. S. Ray, "Preliminary phytochemical screening of certain aphrodisiac plants used in traditional system of medicine," *International Journal of Botany Studies*, vol. 2, no. 5, pp. 33-36, 2017.
- [11] M. M. Jothi and K. Lakshman, "Preliminary studies of phytochemical investigation on coastal medicinal plants of boloor, mangalore," *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 5, no. 2, pp. 1309-1315, 2018.
- [12] S. Q. Cai, J. Yu, X. Wang, R. Q. Wang, F. X. Ran, M. Y. Shang, J. R. Cui, K. Komatsu, and T. Namba, "Cytotoxic activity of some *Asarum* plants," *Fitoterapia*, vol. 79, pp. 293-297, 2008.