

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OILS FROM *OCIMUM GRATISSIMUM* L. GROWN IN HA NOI, VIETNAM

Nguyen Phuong Hanh^{1*}, Nguyen Quoc Binh², Dinh Thi Thu Thuy³

¹Institute of Ecology and Biological Resources – VAST

²Vietnam National Museum of Nature – VAST

³Institute of Natural Product Chemistry – VAST

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 25/7/2022	<i>Ocimum gratissimum</i> L. is an aromatic medicinal plant of <i>Ocimum</i> L. genus (Lamiaceae), which used to treat of various diseases in traditional medicine such as respiratory, digestive, diabetes, cancer,... The essential oil from <i>O. gratissimum</i> was obtained by the steam distillation with the yields of 0.96% (in absolute dry material) and chemical composition was analyzed by GC/MS-FID. In total, 23 components were identified which presented about 99.99% of the oil. Eugenol is the major constituents of this oil, accounting for 80.38%. The oil is strong antioxidant activity with EC ₅₀ of 17.85±1.05µg/ml, while EC ₅₀ of 9.97±0.25µg/ml of positive control. <i>O. gratissimum</i> is an herbal source rich in natural eugenol as natural antioxidant compounds, which has the potential to be used to develop essential oils into human health care products and agricultural preservation.
Revised: 14/9/2022	
Published: 15/9/2022	
KEYWORDS	
Eugenol	
Antioxidant activity	
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	
Essential oil	
EC ₅₀	

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXI HÓA CỦA TINH DẦU HƯƠNG NHU TRẮNG (*OCIMUM GRATISSIMUM* L.) TRỒNG Ở HÀ NỘI, VIỆT NAM

Nguyễn Phương Hạnh^{1*}, Nguyễn Quốc Bình², Đinh Thị Thu Thủy³

¹Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 25/7/2022	Loài Hương nhu trắng (<i>Ocimum gratissimum</i> L.) là thảo dược chứa tinh dầu, thuộc chi Hương nhu (<i>Ocimum</i> L.) họ Hoa môi (Lamiaceae), được sử dụng trong y học cổ truyền chữa các bệnh về đường hô hấp, tiêu hóa, tiểu đường, ung thư,... Bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, tinh dầu thu được có hàm lượng 0,96% và thành phần hóa học được phân tích bằng sắc ký khí khối phổ/ion hóa ngọn lửa (GC/MS-FID). Đã xác định được 23 hợp chất, chiếm 99,99% tổng số tinh dầu. Eugenol có hàm lượng đạt tới 80,38%, là thành phần chính của tinh dầu. Tinh dầu có hoạt tính chống oxi hóa mạnh, giá trị EC ₅₀ là 17,85±1,05µg/ml, trong khi EC ₅₀ của chất tham chiếu là 9,97±0,25µg/ml. Đây là thảo dược giàu nguồn eugenol tự nhiên – nguồn chống oxi hóa tự nhiên, có tiềm năng ứng dụng phát triển nguồn tinh dầu vào trong các sản phẩm chăm sóc sức khỏe con người và bảo vệ nông sản.
Ngày hoàn thiện: 14/9/2022	
Ngày đăng: 15/9/2022	
TỪ KHÓA	
Eugenol	
Hoạt tính chống oxi hóa	
Hương nhu trắng	
Tinh dầu	
EC ₅₀	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6294>

* Corresponding author. Email: hanhiebr@gmail.com

1. Giới thiệu

Ngày nay, con người ưa chuộng sử dụng các sản phẩm từ thiên nhiên trong phòng và chữa bệnh, làm đẹp và chăm sóc sức khỏe.

Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.) là loài thảo dược chứa tinh dầu, thuộc chi Hương nhu (*Ocimum* L.), họ Hoa môi (Lamiaceae) được trồng ở nhiều nơi, cung cấp nguồn nguyên liệu làm thuốc và khai thác tinh dầu. Trong y học cổ truyền, loài này được dùng chữa các bệnh về tiêu đường, ung thư, viêm phổi, thiếu máu, tiêu chảy, đau nhức và nhiễm trùng do nấm và vi khuẩn, viêm phế quản, hen phế quản,... [1]-[5]. Các nghiên cứu hiện nay cho thấy, dịch chiết từ cây Hương nhu trắng còn là nguồn dược liệu tốt điều trị cho người bị suy giảm miễn dịch (HIV/AIDS) [6]. Các hợp chất trong tinh dầu của loài có tính kháng khuẩn cao được dùng làm nước súc miệng, vệ sinh vết thương, ngăn ngừa nhiễm trùng huyết sau sinh [7] và có hoạt tính kháng viêm, chống oxy hóa [8], [9]. Đây là đối tượng tiềm năng thu hút được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước quan tâm nghiên cứu [8]-[25]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, tinh dầu Hương nhu trắng là nguồn giàu eugenol tự nhiên với hàm lượng đạt được từ 54,42 - 75,1% [16], [17], [26], ngoài ra còn có terpinolene, germacrene D, β -ocimene, linalool, α -copaene, β -caryophyllene, thymol,... Đây là những hợp chất có hoạt tính quý như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm và ngăn ngừa khối u, chống ung thư [27]-[33]. Ở Việt nam, các nghiên cứu về loài Hương nhu trắng còn hạn chế, chủ yếu nghiên cứu về thành phần hóa học, các nghiên cứu về hoạt tính chống viêm, chống oxy hóa còn ít. Bài báo này là kết quả nghiên cứu đồng thời hàm lượng, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học chống oxy hóa của tinh dầu Hương nhu trắng làm căn cứ khoa học đánh giá chất lượng và tiềm năng ứng dụng của tinh dầu Hương nhu trắng trong sản xuất thuốc, thực phẩm, mỹ phẩm và thuốc diệt côn trùng (ứng dụng trong nông nghiệp) ở Việt nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp tách và xác định thành phần hóa học của tinh dầu

Thu tinh dầu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hồi lưu trong thiết bị Clevenger với thời gian 3 giờ ở áp suất thường. Tinh dầu được phân tích trên máy sắc ký khí Agilent HP7890A với cột HP5-MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) và detector khối phổ MSD Agilent HP5975C. Nhiệt độ buồng bơm mẫu và detector lần lượt là 250 và 280°C. Chương trình nhiệt độ cột là 60-240°C tăng 4°C /phút. Khí mang Heli, tốc độ dòng 1 ml/phút. Mẫu được bơm 1 μ L theo chế độ chia dòng 100:1. Điều kiện khối phổ như sau: thế ion hóa 70 eV, emission current 40 mA, khoảng quét 35-450 amu. Sử dụng dãy đồng đẳng n-alkane để tính toán chỉ số thời gian lưu giữ (RI) của từng cấu tử. Xử lý số liệu phổ khối bằng phần mềm MassFinder 4.0, so sánh phổ khối và RI với các chất trong thư viện HPCH1607, W09N08 và NIST Chemistry WebBook, nếu cần thiết sẽ so sánh với các chất chuẩn có sẵn tại phòng thí nghiệm. Hàm lượng của các chất trong tinh dầu được phân tích trên máy sắc ký khí Agilent HP7890A kết nối detector ion hóa ngọn lửa (FID) Agilent và cột HP5-MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) với cùng điều kiện như trên. Hàm lượng tương đối của từng cấu tử được tính dựa trên diện tích peak thu được từ sắc ký đồ (FID).

2.2. Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hóa (DPPH)

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) là chất tạo ra gốc tự do được dùng để thực hiện hoạt tính tác dụng chống oxy hóa của tinh dầu Hương nhu trắng. Cách tiến hành gồm: pha dung dịch gốc là 40 mg/ml tinh dầu bằng DMSO ở các nồng độ khác nhau; lấy 10 μ l dung dịch mẫu thử đã được pha trong nước deion ở các nồng độ khác nhau và thêm 190 μ l DPPH 1mM sẽ được dãy dung dịch có nồng độ tương ứng là 256 μ g/ml; 64 μ g/ml; 16 μ g/ml, 4 μ g/ml, thời gian phản ứng 30 phút ở 37°C. Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua việc làm giảm màu của DPPH, được xác định bằng phương pháp đo quang ở bước sóng $\lambda = 517$ nm. Quercetin là chất tham chiếu.

% bẫy gốc tự do DPPH của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$SC\% = (OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{mẫu thử}}) / OD_{\text{trắng}} (\%).$$

EC₅₀ được tính theo giá trị SC tương quan với các nồng độ khác nhau của chất thử, theo phương trình: $y = 0,3225x + 0,0241$, thí nghiệm được lặp lại với $n = 3$. OD trắng là MeOH.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hàm lượng và thành phần hóa học trong tinh dầu Hương nhu trắng

Bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, tinh dầu thu được có màu vàng đậm, nặng hơn nước, hàm lượng đạt 0,96% (tính theo nguyên liệu khô tuyệt đối). So với các nghiên cứu trước đây có sự khác biệt rõ rệt, cụ thể: hàm lượng tinh dầu ở Ấn Độ từ 1,05 - 1,31% [8], [26]; ở Uganda (Trung Phi) đạt 1,21% [18]; ở Benin (Nigeria) là 0,65% và 0,78% tương ứng với cây ở giai đoạn trước ra hoa và đang ra hoa rõ [20] và ở một số vùng của Brazil có biên độ dao động rất lớn từ 0,17% - 1,66% [21], [34]. Ở Việt Nam, hàm lượng tinh dầu Hương nhu trắng thu tại Thái Bình là 0,225% (trọng lượng khô) [16] và ở Đắk Lắk đạt 0,3% ở hoa và 0,45% ở lá [17]. Nguyên nhân của sự khác nhau này có thể do bộ phận thu hái, phương pháp tách chiết, trạng thái nguyên liệu và điều kiện sinh thái gây trồng khác nhau. Như vậy, tinh dầu của mẫu nghiên cứu đạt hàm lượng cao hơn nhiều so với các mẫu thu ở Thái Bình, Đắk Lắk và nhiều vùng trên thế giới.

Để đánh giá chất lượng tinh dầu, ngoài căn cứ về hàm lượng cần thiết phải nghiên cứu về thành phần hóa học và xác định hàm lượng các chất có trong tinh dầu.

Bằng phương pháp GC/MS-FID, thành phần và hàm lượng các chất trong tinh dầu Hương nhu trắng đã được xác định (Bảng 1).

Bảng 1. Thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu trắng (*O. gratissimum* L.)

STT	Thời gian lưu	Chỉ số RI	Tên hợp chất	Hàm lượng (%)	Công thức hóa học
1	13,64	1037	Ocimene <(Z)-b->	0,94	C ₁₀ H ₁₆
2	15,82	1101	Linalool	0,11	C ₁₀ H ₁₈ O
3	18,79	1185	Terpinen-4-ol	0,46	C ₁₀ H ₁₈ O
4	24,75	1361	Cubebene <a->	0,17	C ₁₅ H ₂₄
5	25,05	1370	Eugenol	80,38	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
6	25,73	1390	Copaene <a->	1,26	C ₁₅ H ₂₄
7	26,08	1401	Bourbonene <b->	0,65	C ₁₅ H ₂₄
8	26,17	1404	Elemene <cis-b->	0,44	C ₁₅ H ₂₄
9	27,16	1435	Copaene <b->	0,25	C ₁₅ H ₂₄
10	27,24	1438	Caryophyllene <b->	3,31	C ₁₅ H ₂₄
11	27,49	1446	Gurjunene <b->	0,39	C ₁₅ H ₂₄
12	28,31	1472	Humulene <a->	0,40	C ₁₅ H ₂₄
13	28,90	1491	Murolene <g->	0,71	C ₁₅ H ₂₄
14	29,02	1495	Amorphene <a->	0,19	C ₁₅ H ₂₄
15	29,15	1499	Germacrene D	5,79	C ₁₅ H ₂₄
16	29,50	1510	Amorphene <g->	0,44	C ₁₅ H ₂₄
17	29,60	1514	Murolene <a->	0,54	C ₁₅ H ₂₄
18	30,09	1530	Cadinene <g->	0,52	C ₁₅ H ₂₄
19	30,29	1537	Cadinene <d->	2,21	C ₁₅ H ₂₄
20	30,35	1539	Calamenene <trans->	0,12	C ₁₅ H ₂₂
21	32,31	1605	Caryophyllene oxide	0,26	C ₁₅ H ₂₄ O
22	33,86	1660	Murolol <a->	0,20	C ₁₅ H ₂₆ O
23	34,22	1673	Cadinol <a->	0,27	C ₁₅ H ₂₆ O
Tổng số				99,99	

Từ tinh dầu cây Hương nhu trắng đã xác định được 23 hợp chất, đạt 99,99% tổng số tinh dầu. Eugenol là hợp chất thuộc nhóm phynelypropene có hàm lượng lớn nhất, chiếm tới 80,38% tổng số tinh dầu, trong khi đó germacrene D (5,79%) và β -caryophyllene (3,31%) thuộc nhóm sesquiterpene có hàm lượng thấp hơn; các hợp chất còn lại chiếm tỷ lệ không đáng kể, dao động từ 0,11 - 2,21% (Bảng 1).

So với các nghiên cứu trước đây, hàm lượng eugenol (80,38%) trong nghiên cứu này cao hơn. Tỷ lệ eugenol trong tinh dầu Hương nhu trắng ở phía nam Western Ghats và Belgaum của Ấn Độ chiếm 54,42% [26] và 75,1% [8], ở Uganda (Trung Phi) hàm lượng này là 56,4% [18], ở Ceara (Brazil) là 72,26% [21], còn ở Đắk Lắk và Thái Bình (Việt Nam) lần lượt là 65,135% [16] và 59,448% [17]. Kết quả của nhiều nghiên cứu đã cho thấy, eugenol là hợp chất chính chiếm tỷ lệ lớn hơn 50% tổng số tinh dầu Hương nhu trắng. Tuy nhiên, ở nghiên cứu khác lại cho thấy, linalool (74,22%) là hợp chất chiếm tỷ lệ lớn nhất trong tinh dầu Hương nhu trắng trồng ở Romania [23]; thymol (29,8%) và phytol (14,68%) là thành phần chính trong mẫu thu ở West Bengal, Ấn Độ [22]. Nguyên nhân của sự khác nhau này có thể là do nguồn gen, vị trí địa lý, thời gian và bộ phận thu hái, cây trồng hay hoang dại.

Các nghiên cứu đã cho thấy, eugenol là hợp chất có giá trị dược lý cao, bảo vệ sức khỏe con người nhờ có các hoạt tính kháng khuẩn, chống viêm, giảm đau, chất chống oxy hóa và chống các vi khuẩn kháng thuốc [20], [30], [31].

Như vậy, hàm lượng và thành phần hóa học trong tinh dầu thu được từ loài Hương nhu trắng trồng ở Hà Nội cho chất lượng tinh dầu cao hơn so với một số vùng trồng khác ở Việt Nam và trên thế giới. Đây là thảo dược có tinh dầu giàu nguồn eugenol tự nhiên - một hợp chất có vòng phenolic, được dùng để tinh chế eugenol, ứng dụng phát triển sản xuất các sản phẩm chăm sóc sức khỏe và làm đẹp cho con người.

3.2. Hoạt tính chống oxy hóa

Nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa của tinh dầu làm căn cứ quan trọng để đánh giá tiềm năng ứng dụng tinh dầu trong lĩnh vực y - dược, thực phẩm và làm đẹp. Khả năng bắt gốc tự do DPPH được dùng để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của tinh dầu Hương nhu trắng. Đây là hoạt tính sinh học đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ và chăm sóc sức khỏe con người, giúp cơ thể tránh được các tác nhân xấu từ môi trường làm biến dạng hoặc xuất hiện các tế bào lạ gây nên các bệnh mới, bệnh hiểm nghèo và làm cơ thể bị lão hóa sớm.

Khả năng bắt gốc tự do DPPH của tinh dầu Hương nhu trắng được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng bắt gốc tự do của tinh dầu Hương nhu trắng

Tên mẫu	Tinh dầu hương nhu trắng				Chất tham chiếu Quercetin			
	Nồng độ (µg/ml)							
Nồng độ	4	16	64	256	0,5	2	8	32
% bắt giữ gốc tự do	33	48	100	100	0	0	45,5	100
EC ₅₀ (µg/ml)	17,85 ± 1,05				9,97 ± 0,25			

Từ kết quả bảng 2 cho thấy, tinh dầu Hương nhu trắng có hoạt tính chống oxy hóa rất mạnh, thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH. Ở nồng độ thấp 16µg/ml, tinh dầu đã bắt được 48% gốc tự do DPPH và 100% ở nồng độ 64µg/ml. Giá trị EC₅₀ của tinh dầu Hương nhu trắng được xác định là 17,85±1,05µg/ml, cao hơn 1,79 lần so với chất tham chiếu Quercetin (EC₅₀: 9,97±0,25µg/ml). Khả năng dọn gốc tự do của tinh dầu Hương nhu trắng trong nghiên cứu này mạnh hơn so với một số nghiên cứu trước đây, cụ thể: ở Ấn Độ, nồng độ tinh dầu là 23,66±0,55µg/ml bắt giữ được 50% gốc tự do DPPH [8], trong khi mẫu tinh dầu Hương nhu trắng ở Nigeria thể hiện hoạt tính chống oxy hóa ở nồng độ 66,98 ± 1,78µg/ml [25]. Một số nghiên cứu đã cho thấy, khả năng chống oxy hóa có mối tương quan thuận với tỷ lệ cao các chất có vòng phenolic như eugenol, đồng thời các hợp chất khác có trong tinh dầu Hương nhu trắng như β-caryophyllene, α- and β-pinene, α-humulene, sabinene, β-myrcene, limonene, 1,8-cineole, trans-β-ocimene, linalool, α- and δ-terpineol, camphene, α-copaene, β-elemene, p-cymene, thymol, carvacrol,... đều có hoạt tính chống oxy hóa, chống viêm, chống ung thư, bảo vệ gan, chống đái tháo đường, hạ huyết áp, chống tiêu chảy và kháng khuẩn đã được chứng minh [3], [24]. Hương nhu trắng là loài thảo dược chứa tinh dầu giàu nguồn eugenol tự nhiên, có hoạt tính chống oxy

hóa mạnh đóng vai trò quan trọng trong việc phòng chống ung thư, bệnh Alzheimer và chống lão hóa da,...

4. Kết luận

Tinh dầu thu được từ loài Hương nhu trắng (*O. gratissimum* L.) đạt hàm lượng 0,96% (tính theo nguyên liệu khô). Đã xác định được 23 hợp chất, chiếm 99,99% tổng số tinh dầu, trong đó, hàm lượng eugenol chiếm tới 80,38% tổng số tinh dầu; tiếp theo là germacrene D (5,79%) và β -caryophyllene (3,21%); các hợp chất khác biến động từ 0,11-2,21%. Tinh dầu Hương nhu trắng có hoạt tính chống oxy hóa mạnh (EC_{50} : $17,85 \pm 1,05 \mu\text{g/ml}$).

Như vậy, tinh dầu Hương nhu trắng giàu nguồn eugenol tự nhiên - một hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Đây là nguồn thảo dược chứa tinh dầu tiềm năng, ứng dụng trong phát triển các sản phẩm thuốc, thực phẩm chức năng, làm đẹp và bảo quản nông sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. C. Vo, *Vietnamese medicinal plant Dictionary*. Medical Publishing House, vol. 1, p. 1175, 2012.
- [2] O. C. Ugbogu, O. Emmanuel, G. O. Agi, C. Ibe, C. N. Ekweogu, V. C. Ude, M. E. Uche, R. O. Nnanna, and E. A. Ugbogu, "A review on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.)," *Heliyon*, vol. 7, no. 11, 2021, Art. no. e08404, doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08404.
- [3] E. U. Akara, E. Okezie, V. C. Ude, C. Uche-Ikonne, G. Eke, and A. E. Ugbogu, "Ocimum gratissimum leaf extract ameliorates phenylhydrazine-induced anaemia and toxicity in Wistar rats," *Drug Metab. Pers. Ther.*, 2021, doi: 10.1515/dmpt-2020-0185.
- [4] P. Prakash and N. Gupta, "Therapeutic uses of *Ocimum sanctum* Linn (Tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions: a short review," *Indian J Physiol Pharmacol*, vol. 49, no. 2, pp. 125-31, 2005.
- [5] P. Bhattacharyya and A. Bishayee, "Ocimum sanctum Linn. (Tulsi): an ethnomedicinal plant for the prevention and treatment of cancer," *Anticancer Drugs*, vol. 24, no. 7, pp. 659-666, 2013, doi: 10.1097/CAD.0b013e328361aca1.
- [6] C. Priyanka, S. Shivika, and S. Vikas, "Ocimum gratissimum: a review on ethnomedicinal properties, phytochemical constituents, and pharmacological profile," In *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants*, pp. 251-270, 2018.
- [7] K. F. Chah, C. A. Eze, C. E. Emuelosi, and C. O. Esimone, "Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 104, pp. 164-167, 2006.
- [8] R. K. Joshi, "Chemical composition, in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. Sanctum* and their major constituents," *Indian J. Pharmaceut. Sci.*, vol. 75, pp. 457-462, 2013.
- [9] R. S. Melo, A. M. A. Azevedo, A. M. G. Pereira, R. R. Rocha, R. M. B. Cavalcante, M. N. C. Matos, P. H. R. Lopes, G. A. Gomes, T. H. S. Rodrigues, H. S. Dos Santos, I. L. Ponte, R. A. Costa, G. S. Brito, F. E. A. C. Júnior, and V. A. Carneiro, "Chemical composition and antimicrobial effectiveness of ocimum gratissimum L. Essential oil against multidrug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*," *Molecules*, vol. 3864, pp. 2-17, 2019.
- [10] L. G. Matasyoh, J. C. Matasyoh, F. N. Wachira, M. G. Kinyua, A. W. Muigai, and T. K. Mukiyama, "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya," *Afr J Biotechnol*, vol. 6, pp. 760-765, 2007.
- [11] M. G. Silva, F. J. Matos, P. R. Lopes, F. O. Silva, and M. T. Holanda, "Composition of essential oils from three *Ocimum* species obtained by steam and microwave distillation and supercritical CO₂ extraction," *ARKIVOC*, vol. 6, pp. 66-71, 2004.
- [12] T. Suanarunsawat, W. D. Ayutthaya, T. Songsak, S. Thirawarapan, and S. Pongshompoo, "Antioxidant activity and lipid-lowering effect of essential oils extracted from *Ocimum sanctum* L. leaves in rats fed with a high cholesterol diet," *J Clin Biochem Nutr.*, vol. 46, pp. 52-59, 2010.
- [13] A. Khan, A. Ahmad, F. Akhtar, S. Yousuf, I. Xess, and L. A. Khan, "Ocimum sanctum essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity," *Res Microbiol.*, vol. 161, pp. 816-823, 2010.

- [14] S. R. Vani, S. F. Cheng, and C. H. Chuah, "Comparative Study of volatile compounds from genus *Ocimum*," *Am J Appl Sci.*, vol. 6, pp. 523-528, 2009.
- [15] A. Khan, A. Ahmad, N. Manzoor, and L. A. Khan, "Antifungal activities of *Ocimum sanctum* essential oil and its lead molecules," *NatProd Commun.*, vol. 5, pp. 345-349, 2010.
- [16] P. N. T. Dung, T. P. Dao, T. T. Le, H. T. Tran, T. T. T. Dinh, Q. L. Pham, Q. T. Tran, and M. Q. Pham, "Extraction and analysis of chemical composition of *Ocimum gratissimum* L essential oil in the North of Vietnam," *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, vol. 1092, pp. 1-5, 2021, Art. no. 012092, doi: 10.1088/1757-899X/1092/1/012092.
- [17] N. C. Huong, T. T. K. Ngan, T. T. Anh, X. T. Le, T. D. Lam, M. H. Cang, T. T. T. Huong, and N. D. Y. Pham, "Physical and Chemical Profile of Essential oil of Vietnamese *Ocimum gratissimum* L.," *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, vol. 736, pp. 1-6, 2020, doi:10.1088/1757-899X/736/6/062010.
- [18] F. Ocheng, F. Bwanga, M. Joloba, A. Softrata, M. Azeem, K. Pütsep, A. K. Borg-Karlson, C. Obua, and A. Gustafsson, "Essential oils from Ugandan aromatic medicinal plants: Chemical composition and growth inhibitory effects on oral pathogens," *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, vol. 2015, pp. 1-10, 2015, doi: 10.1155/2015/230832.
- [19] A. Marchese, R. Barbieri, E. Coppo, I. E. Orhan, M. Daglia, S. F. Nabavi, M. Izadi, M. Abdollahi, S. M. Nabavi, and M. Ajami, "Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint," *Crit Rev Microbiol.*, vol. 43, no. 6, pp. 668-689, 2017, doi: 10.1080/1040841X.2017.1295225.
- [20] B. G. H. K. Kpoviessi, E. Y. Ladekan, D. S. S. Kpoviessi, F. Gbaguidi, B. Yehouenou, J. Quetin-Leclercq, G. Figueredo, M. Moudachirou, and G. C. Accrombessi, "Chemical variation of essential oil constituents of *Ocimum gratissimum* L. from Benin, and impact on antimicrobial properties and toxicity against *Artemia salina* leach," *Chem Biodivers*, vol. 9, no. 1, pp. 139-150, 2012, doi: 10.1002/cbdv.201100194.
- [21] M. K. do N. Silva, V. R. De A. Carvalho, and E. F. F. M. Pharmacogn, "Chemical Profile of Essential oil of *Ocimum gratissimum* L. and Evaluation of Antibacterial and Drug Resistance-modifying Activity by Gaseous Contact Method," *Pharmacognosy Journal*, vol. 8, no. 1, pp. 4-9, 2016, doi: 10.5530/pj.2016.1.2.
- [22] T. Chowdhury, A. Mandal, S. C. Roy, and D. De Sarker, "Diversity of the genus *Ocimum* (Lamiaceae) through morpho-molecular (RAPD) and chemical (GC-MS) analysis," *J. Genet Eng Biotechnol.*, vol. 15, no. 1, pp. 275-286, 2017, doi: 10.1016/j.jgeb.2016.12.004.
- [23] M. Stefan, M. M. Zamfirache, C. Padurariu, E. Trută, and I. Gostin, "The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania," *Cent. Eur. J. Biol.*, vol. 8, no. 6, pp. 600-608, 2013, doi: 10.2478/s11535-013-0171-8.
- [24] K. S. Prabhu, R. Lobo, A. A. Shirwaikar, and A. Shirwaikar, "*Ocimum gratissimum*: A Review of its Chemical, Pharmacological and Ethnomedicinal Properties," *The Open Complementary Medicine Journal*, vol. 1, pp. 1-15, 2009.
- [25] S. A. Adeola, O. S. Folorunso, O. O. Okedeyi, B. F. Ogungbe, O. B. Babatimehin, and O. Z. Thanni, "Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Volatile Oil of *Ocimum gratissimum* and its Inhibition on Partially Purified and Characterized Extracellular Protease of *Salmonella enteritidis*," *American Journal of drug discovery and development*, vol. 4, no. 3, pp. 180-193, 2014.
- [26] K. Ashokkumar, S. Vellaikumar, M. Murugan, M. K. Dhanya, S. Aiswarya, and M. Nimisha, "Chemical composition of *Ocimum gratissimum* essential oil from the South Western Ghats, India," *J. Curr. Opin. Crop Sci.*, vol. 1, no. 1, pp. 27-30, 2020.
- [27] M. Sayyah, L. Nadjafnia, and M. Kamalinejad, "Anticonvulsant activity and chemical composition of *Artemisia dracunculus* L. essential oil," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 94, pp. 283-287, 2004.
- [28] L. Li, C. Shi, Z. Yin, R. Jia, L. Peng, S. Kang, and Z. Li, "Antibacterial activity of α -terpineol may induce morphostructural alterations in *Escherichia coli*," *Braz. J. Microbiol.*, vol. 45, pp. 1409-1413, 2015.
- [29] S. B. Hassan, H. Gali-Muhtasib, H. Göransson, and R. Larsson, "Alpha terpineol: a potential anticancer agent which acts through suppressing NF-kappaB signaling," *Anticancer Res.*, vol. 30, pp. 1911-1919, 2010.
- [30] S. M. Nejad, H. Özgüneş, and N. Başaran, "Pharmacological and toxicological properties of eugenol," *Tur. J. Pharm. Sci.*, vol. 14, pp. 201-206, 2017.

-
- [31] J. N. Barboza, C. da S. M. B. Filho, R. O. Silva, J. Medeiros, and D. P. de Sousa, "An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol," *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2018, Art. no. 3957262.
- [32] H. Turkez, B. Togar, A. Tatar, F. Geyikoglu, and A. Hacimuftuoglu, "Cytotoxic and cytogenetic effects of α -copaene on rat neuron and N2a neuroblastoma cell lines," *Biologia.*, vol. 69, pp. 936-942, 2014.
- [33] K. Machado, M. T. Islam, E. S. Ali, R. Rouf, S. J. Uddin, S. Dev, J. A. Shilpi, M. C. Shill, H. M. Reza, A. K. Das, S. Shaw, M. S. Mubarak, S. K. Mishra, and A. Melo-Cavalcante, "A systematic review on the neuroprotective perspectives of beta-caryophyllene," *Phytother Res.*, vol. 32, pp. 2376-2388, 2018.
- [34] T. J. Faria, R. S. Ferreira, L. Yassumoto, J. R. P. de Souza, N. K. Ishikawa, and A. M. Barbosa, "Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi," *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 49, pp. 867-871, 2006, doi: 10.1590/S1516-89132006000700002.