

THE CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE WILLOW EXTRACT FROM BAC KAN PROVINCES

Hoang Phu Hiep, Pham Hong Chuyen, Tu Quang Trung*, Nguyen Manh Cuong,
Vu Thanh Tuyet, Vu Trong Luong, Pham Van Khang

TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 08/01/2024 Revised: 25/3/2024 Published: 05/4/2024	Willow (<i>Salix babylonica</i>) was used as medicine by ancient civilizations for its analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory properties. The bark and leaves of the Willow contain various organic substances, especially salicin, a chemical similar to aspirin (acetylsalicylic acid), which acts as an analgesic drug. This study aimed to analyze the chemical composition and bioactivities of Willow leaf extracts collected at Bac Kan province. The chemical composition was determined by the GC/MS method. Besides, the antioxidant activity of the samples was investigated using the DPPH method, and the antimicrobial activity was determined using the zone inhibition test. According to the GC/MS results, there are 26 compounds in the Willow extract, with seven major components (68.57% of the total composition). The Willow leaf ethanol extract has good antibacterial activity against five tested strains, with the highest activity observed against the <i>B. subtilis</i> strain. Ethanol extract from Willow leaves has the ability to inhibit the growth of 3 tested fungal strains, of which the best is <i>A. Flavus</i> . The antioxidant activity of the Willow ethanol extract was 5.36 µg/mL.
KEYWORDS	
Bioactivities Chemical composition GC/MS Leaf extract Salix babylonica	

THÀNH PHẦN VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CAO CHIẾT LIỄU THU TẠI TỈNH BẮC KẠN

Hoàng Phú Hiệp, Phạm Hồng Chuyên, Từ Quang Trung*, Nguyễn Mạnh Cường,
Vũ Thanh Tuyết, Vũ Trọng Lượng, Phạm Văn Khang

Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 08/01/2024 Ngày hoàn thiện: 25/3/2024 Ngày đăng: 05/4/2024	Cây Liễu (<i>Salix babylonica</i>) đã được người cổ đại sử dụng làm thuốc giảm đau, hạ sốt và chống viêm. Trong vỏ và lá của cây Liễu chứa nhiều chất hữu cơ khác nhau, đặc biệt là salicin, một chất tương tự như aspirin (acetylsalicylic acid), có tác dụng như thuốc giảm đau. Mục đích của nghiên cứu này là phân tích thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chiết xuất lá Liễu thu tại tỉnh Bắc Kạn. Thành phần hóa học được xác định bằng phương pháp GC/MS. Bên cạnh đó, hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu được xác định bằng phương pháp DPPH và hoạt tính kháng khuẩn khảo sát bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Theo kết quả GC/MS, trong dịch chiết Liễu có 26 hợp chất, với 7 thành phần chính (chiếm 68,57% tổng thành phần). Chiết xuất ethanol từ lá Liễu có hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với 5 chủng được thử nghiệm, với hoạt tính cao nhất được quan sát thấy đối với chủng <i>B. subtilis</i> . Chiết xuất ethanol từ lá Liễu có hoạt tính ức chế sự phát triển của 3 chủng nấm thử nghiệm, trong đó tốt nhất là chủng nấm <i>A. Flavus</i> . Ngoài ra, hoạt tính chống oxy hóa của chiết xuất ethanol Willow là 5,36 µg/mL.
TỪ KHÓA	
Hoạt tính sinh học Thành phần hoá học GC MS Cao chiết lá Salix babylonica	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9554>

* Corresponding author. Email: trungtq@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Liều (*Salix babylonica*) là cây gỗ dáng nhỏ, tán lá rũ xuống dưới đất, cao trung bình từ 6–10 m [1]. Cây Liều chứa nhiều loại hợp chất khác nhau như flavonoid [2], [3], phenolic glycosides [4], [5], ngoài ra còn chứa các chất khác như procyanidin, acid hữu cơ và các dẫn xuất của chúng, phenol, sterol và terpen, lignan, chất bay hơi và acid béo. Cây Liều đã được sử dụng trong y học từ thời cổ đại và có liên quan đến việc phát hiện ra acetylsalicylic acid và aspirin. Theo truyền thống, những cây này được sử dụng để điều trị các chứng đau nhức cơ xương khớp, viêm và sốt. Salicin là một chất chuyển hóa có hoạt tính dược lý chính trong Liều và thủy phân trong đường tiêu hóa để tạo thành rượu salicyl và D-glucose. Sau khi hấp thụ, chất này bị oxy hóa thành salicylic acid, một loại thuốc có hoạt tính ức chế cyclooxygenase (COX I, II) [6]. Ở Trung Đông, cây *S. egyptiaca* được sử dụng để điều trị bệnh thiếu máu và chóng mặt, như một tác nhân hỗ trợ tim mạch và cũng được dùng để chế biến kẹo địa phương như một chất phụ gia tạo mùi thơm. *Salix alba* L. (Liều trắng) đã được sử dụng trong y học dân gian để điều trị sốt, viêm mãn tính và cấp tính, đau và nhiễm trùng. *Salix tetrasperma* Roxb. đã được sử dụng để điều trị các bệnh như động kinh, tiểu đường, sốt, thấp khớp, mót rặn, sưng tấy, sỏi trong bàng quang, kiết lỵ, vết thương, đau tai, ho và cảm lạnh. Vỏ cây *S. alba* L. theo truyền thống được sử dụng để điều trị cảm cúm, thấp khớp, sốt và nhức đầu. Hơn nữa, cây Liều còn có tác dụng giảm đau, chống đông máu [7], chống oxy hóa [8], chống ung thư [9], gây độc tế bào, chống đái tháo đường, kháng khuẩn [10], bảo vệ thần kinh và bảo vệ gan [11], ức chế virus HIV [12]...

Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào so sánh thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây Liều trồng giữa các vùng ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá thành phần hóa học và hoạt động sinh học của loài Liều *Salix babylonica* thu tại tỉnh Bắc Kạn.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Cây Liều (*S. babylonica*) được trồng tại thành phố Bắc Kạn. Lá Liều được thu thập vào tháng 02 năm 2023 và được lưu trữ tại khoa Sinh học, trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên. Các mẫu lá Liều thu được đều được sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 50°C cho đến khi khối lượng không đổi và được sử dụng tạo cao chiết.

Các hoá chất sử dụng bao gồm: EtOH (Việt Nam), DMSO (Kanto Chemical Co., Japan), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) (Alfa Aesar -Karlsruhe, Đức)...

Chủng vi khuẩn gram dương gồm *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* và chủng vi khuẩn gram âm gồm *Citrobacter freundii* do khoa Sinh học, trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên cung cấp.

2.2. Chuẩn bị dịch chiết ethanol

Lá Liều khô được nghiền nhỏ, trộn và ngâm với ethanol tuyệt đối ở 90°C trong 3 ngày. Sau đó, dịch chiết được lọc qua giấy lọc Whatman No 1 và loại bỏ cồn bằng máy cô quay chân không EYELA để thu lại cao chiết cồn. Dịch chiết thô sau đó được giữ ở 4°C để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

2.3. Phân tích GC/MS

Phân tích GC/MS (Gas chromatography–mass spectrometry) được thực hiện với hệ thống Hewlett Packard GC (HP5890 seri II)/hệ thống MS tứ cực (model HP MSD5971), được trang bị nguồn tác động điện tử ở 200°C, với cột mao quản silica có HP5MS pha tĩnh cực (30 m x 0,25 mm, độ dày màng 0,25 µm). Các điều kiện sắc ký giống với phân tích GC, phổ tác động của điện tử được ghi lại ở điện thế ion 70eV trong phạm vi quét 30-600 uma.

2.4. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn được thử nghiệm bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch và theo đường kính vòng kháng khuẩn để đánh giá khả năng kháng khuẩn của cao chiết [13].

Tất cả vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường thạch dinh dưỡng ở 30°C trong 24 giờ. Dịch nuôi vi sinh vật được pha loãng với nước cất vô trùng và được điều chỉnh đến khoảng 10^8 đơn vị hình thành khuẩn lạc trên mililit (CFU/mL) bằng cách đo ở bước sóng OD600. Cấy trải 0,1 mL dịch vi sinh vật đã pha loãng lên đĩa thạch. Đục các giếng có đường kính 6 mm. Các dung dịch gốc được pha loãng (25 µg/mL, 50 µg/mL và 100 µg/mL) bằng DMSO (Dimethyl sulfoxide), sau đó thêm 50 µL dung dịch vào mỗi giếng trong 1 giờ, 4°C. Vi khuẩn được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau khi ủ, đo đường kính vòng kháng khuẩn để đánh giá hoạt tính. Đối chứng âm là DMSO. Đối chứng dương tính là Ampicilline 50 mg/mL. Các thí nghiệm được thực hiện trong ba lần.

2.5. Đánh giá hoạt tính kháng nấm

Phương pháp thử hoạt tính kháng nấm theo mô tả của Jiao và cộng sự [9]. Nấm *A. brasiliensis*, *A. flavus* và *C. albican* được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 3 ngày, sau đó tách sợi nấm từ rìa khuẩn lạc cấy vào 100 mL môi trường PDB ở 30°C, lắc 200 vòng/phút từ 3-5 ngày. 100 µL dịch bào tử được cấy trải lên đĩa môi trường PDA. Tiến hành đục lỗ tạo giếng thạch và nhỏ vào mỗi giếng 50 µL cao chiết ở các nồng độ 50; 25; 10 mg/mL. Ủ các đĩa ở 30°C trong 3 ngày. Đường kính vòng kháng nấm sợi được đo sau 3 ngày. Đối chứng âm là dung môi DMSO 2%. Đối chứng dương là kháng sinh amphotericin B 50 mg/mL.

2.6. Phân tích hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa được thực hiện bằng phương pháp bắt gốc tự do (DPPH) [14]. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) là gốc tự do bền, màu tím. Khi gặp các chất có khả năng cho H, chuyển về dạng khử có màu vàng nhạt của 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine. Thí nghiệm được tiến hành như sau: Cao chiết được pha loãng thành dãy nồng độ từ 1 µg/mL - 512 µg/mL bằng methanol. Bổ sung 40 µL DPPH 1000 µg/mL vào 960 µL cao Liều. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH tại bước sóng 517 nm để xác định được % ức chế (I).

$$I\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100$$

Trong đó: I%: Nồng độ ức chế; A_i : Độ hấp thụ của mẫu; A_0 : Độ hấp thụ của DPPH khi không có mẫu. Giá trị IC₅₀ được xác định dựa trên đường chuẩn tuyến tính giữa nồng độ µg/ml mẫu và % chống oxy tương ứng. Đối chứng dương được sử dụng trong thử nghiệm là Vitamin C.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Thành phần hoá học cao chiết Liều

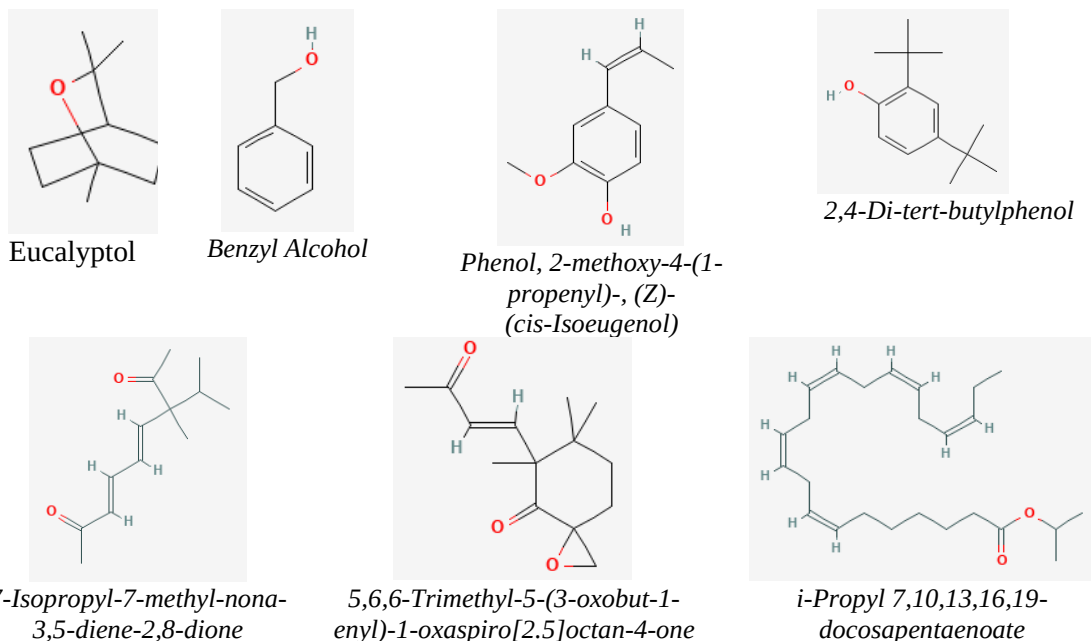
Sau khi thu được cao chiết Liều, hoà tan 1g cao trong 10 mL dung môi n- hexan bằng siêu âm. Tiếp theo, lọc lấy dịch tiến hành chạy GC/MS để xác định thành phần hoá học. Song song với cao chiết Liều thu tại Bắc Kạn, chúng tôi tiến hành chạy GC/MS với mẫu cao chiết Liều thu tại Thái Nguyên để so sánh. Kết quả thể hiện trên bảng 1.

Kết quả GC/MS của cao chiết lá Liều cho thấy, trong thành phần cao chiết chứa 26 hợp chất được định danh, trong đó cao chiết lá Liều thu thập tại Bắc Kạn có 19 hợp chất, cao chiết lá thu tại Thái Nguyên có chứa 9 hợp chất. Giữa cao chiết lá Liều thu tại Thái Nguyên và Bắc Kạn có sự khác nhau. Các thành phần chính của cao chiết lá Liều thu tại Bắc Kạn gồm 7-isopropyl-7-methyl-nona-3,5-diene-2,8-dione (32,883%), i-propyl 7,10,13,16,19-docosapentaenoate (18,155%), benzyl alcohol (9,595%), eucalyptol (7,937%) chiếm 68,57% thành phần các chất trong cao chiết. Đối với cao chiết thu tại Thái Nguyên, thành phần chính bao gồm: 5,6,6-trimethyl-5-(3-oxobut-1-enyl)-1-oxaspiro[2.5]octan-4-one (50,645%), benzyl alcohol (22,731%), phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (Z)- (6,725%), 2,4-di-tert-butylphenol (6,062%) chiếm 86,163% các chất trong cao chiết (hình 1).

Bảng 1. Bảng so sánh thành phần hoá học lá Liễu Bắc Kạn và Thái Nguyên

TT	Thời gian lưu (min.)	Công thức phân tử	Tên hợp chất	Trọng lượng phân tử	RI	% tổng số	
						BK	TN
1	11,068	C ₁₀ H ₁₈ O	Eucalyptol	154,2493	1038	7,937	
2	11,22	C ₇ H ₈ O	Benzyl alcohol	108,1378	1020,3	9,595	22,731
3	15,898	C ₁₀ H ₁₈ O	α -Terpineol	154,2493	1190	1,569	
4	20,04	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	3-Buten-2-ol, 2-methyl-4-(1,3,3-trimethyl-7-oxabicyclo[4,1,0]hept-2-yl)-	224,34	1497	1,797	
5	20,424	C ₁₄ H ₃₀	Tetradecane	198,388	1413		1,182
6	21,135	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (Z)-	164,2011	1392	2,13	6,725
7	21,665	C ₁₄ H ₂₂ O	2,4-Di-tert-butylphenol	206,3239	1513	3,675	6,062
8	21,782	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	7-Isopropyl-7-methyl-nona-3,5-diene-2,8-dione	208,3	1453	32,883	1,604
9	22,038	C ₁₄ H ₂₀ O ₃	5,6,6-Trimethyl-5-(3-oxobut-1-enyl)-1-oxaspiro[2,5]octan-4-one	236,31	1746		50,645
10	22,295	C ₁₅ H ₂₄ O	Ledene oxide-(II)	220,35	1812	2,548	
11	23,056	C ₁₆ H ₂₆ O	Dimethyldodecahydrocyclohepta[d]inden-3-one	234,38	1801	3,169	4,446
12	23,71	C ₂₀ H ₃₂	α -Phellandrene, dimer	272,5		1,017	
13	23,829	C ₂₀ H ₃₈	Neophytadiene	278,5157	1840	1,388	
14	24,285	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Tridecanoic acid, 4,8,12-trimethyl-, methyl ester	270,5	1686	1,493	
15	24,486	C ₂₁ H ₄₄	Eicosane, 2-methyl-	296,5741	2062,8	1,982	
16	24,496	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	n-Hexadecanoic acid	256,4241	1964		2,04
17	25,962	C ₂₁ H ₂₈ O ₄	Androst-1-en-3-one, 17-(acetyloxy)-4,5-epoxy-, (4 α ,5 α ,17 α)-			1,229	4,565
18	26,281	C ₂₃ H ₃₂ O	2-[4-methyl-6-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)hexa-1,3,5-trienyl]cyclohex-1-en-1-carboxaldehyde			4,246	
19	26,455	C ₂₅ H ₄₀ O ₂	i-Propyl 7,10,13,16,19-docosapentaenoate			18,155	
10	26,566	C ₂₈ H ₅₀	13,15-Octacosadiyne	386,7	2839	1,952	
21	26,755	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	4-Methoxyandrost-4-ene-3,17-diol, diacetate	404,5	2601	1,457	

Trong nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã xác định được trong cao chiết ethanol Liễu *S. babylonica* thu tại Thái Nguyên có các hợp chất hữu cơ như phenolic, alkaloid, saponin, flavonoid, coumarin và steroid [15]. Trong bảng 1, ngoài các chất hữu cơ thuộc nhóm hợp chất phenol, steroid, chúng tôi còn thu được một số nhóm khác như: alcohol (benzyl alcohol, 3-Buten-2-ol, 2-methyl-4-(1,3,3-trimethyl-7-oxabicyclo[4,1,0]hept-2-yl)-); hydrocarbon (tetradecane, eicosane, 2-methyl-); nhóm ketone (7-Isopropyl-7-methyl-nona-3,5-diene-2,8-dione, 5,6,6-Trimethyl-5-(3-oxobut-1-enyl)-1-oxaspiro[2,5]octan-4-one, 3a,9-Dimethyldodecahydrocyclohepta[d]inden-3-one, androst-1-en-3-one, 17-(acetyloxy)-4,5-epoxy-, (4 α ,5 α ,17 α)-); nhóm diene (13,15-Octacosadiyne); nhóm ester (tridecanoic acid, 4,8,12-trimethyl-, methyl ester, 4-Methoxyandrost-4-ene-3,17-diol, diacetate); nhóm terpenoid (α -phellandrene, neophytadiene) và chất béo.



Hình 1. Các thành phần chính trong cao chiết Liễu Bắc Kạn và Thái Nguyên

3.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

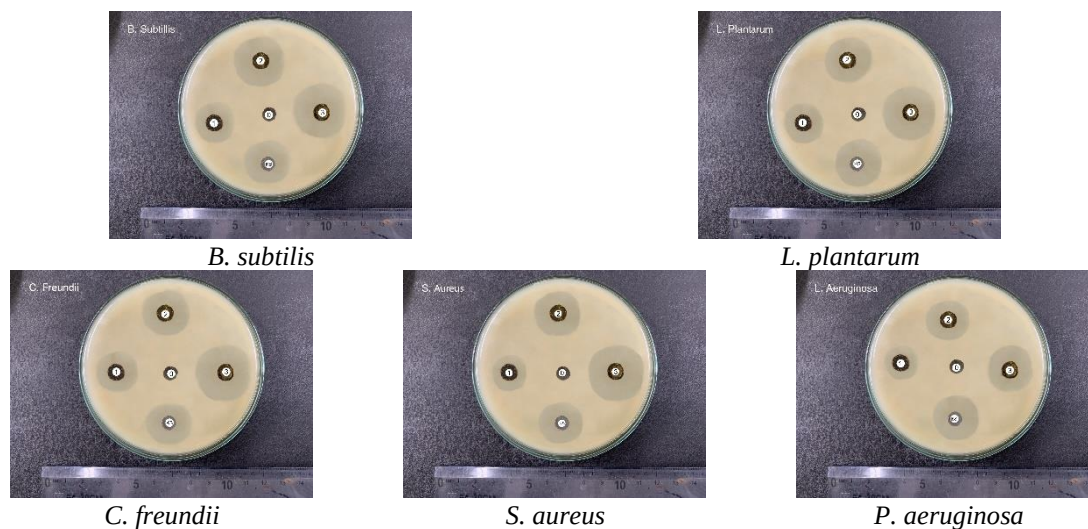
Khả năng kháng khuẩn của cao chiết ethanol Liễu trên từng chủng vi khuẩn được thể hiện trên bảng 2 và hình 2.

Bảng 2. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết ethanol Liễu (đơn vị: mm)

Vi khuẩn	<i>C. freundii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Nồng độ					
KS 50 mg/mL	20,27 ^b	20,43 ^c	24,17 ^c	22,47 ^b	22,37 ^a
Cao 100 mg/mL	24,33 ^a	28,27 ^a	28,23 ^a	24,03 ^a	22,10 ^b
Cao 50 mg/mL	20,20 ^b	22,33 ^b	26,40 ^b	22,17 ^c	16,23 ^c
Cao 25 mg/mL	14,47 ^c	10,43 ^d	16,50 ^d	16,10 ^d	10,23 ^d

Chú thích: Các giá trị mang chữ mũ khác nhau theo cột thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê với phép thử Duncan ($P < 0,05$)

Kết quả cho thấy cao chiết ethanol Liễu có khả năng ức chế tốt sự phát triển của cả 5 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Hiệu quả kháng khuẩn của cao chiết ethanol Liễu tốt nhất trên chủng vi khuẩn *B. subtilis*, *S. aureus*, sau đó đến *L. plantarum*, *C. freundii* và thấp với *P. aeruginosa*. Ở nồng độ 25 mg/mL, cao chiết Liễu vẫn có hoạt tính tốt với các chủng vi khuẩn thử nghiệm, đặc biệt là *B. subtilis*, *S. aureus*. Kết quả này tương ứng với nghiên cứu của González-Alamilla và cộng sự (2020) [16]. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy hoạt tính kháng khuẩn tốt của cao chiết Liễu với cả chủng vi khuẩn Gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*) và Gram dương (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis*) [17], [18]. Một số nghiên cứu khác cho rằng, hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết Liễu có hoạt tính tốt với một số vi khuẩn Gram dương và kém đối với một số vi khuẩn Gram âm do bên ngoài vi khuẩn Gram âm có cấu trúc màng nhầy ngăn ngừa các chất độc đối với tế bào vi khuẩn [19], [20]. Trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi [15], cao chiết Liễu *S. babylonica* thu tại Thái Nguyên cũng có hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với các chủng *C. freundii*, *S. aureus* và *P. aeruginosa*, tuy nhiên hoạt tính vẫn thấp hơn so với cao chiết Liễu *S. babylonica* thu tại Bắc Kạn. Như vậy, có thể thấy vị trí địa lý cũng ảnh hưởng tới hoạt tính sinh học của thực vật.

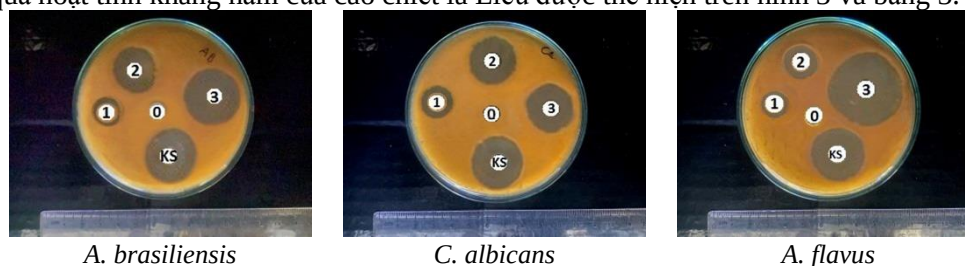


Hình 2. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết ethanol Liễu

Chú thích: KS: Ampicilline 50 mg/mL, 0: DMSO; 1: 25 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 100 mg/mL

3.3. Đánh giá hoạt tính kháng nấm

Kết quả hoạt tính kháng nấm của cao chiết lá Liễu được thể hiện trên hình 3 và bảng 3.



Hình 3. Kết quả kháng nấm của cao chiết lá Liễu

Ghi chú: 0: DMSO 2%; 1: 10 mg/mL; 2: 25 mg/mL; 3: 50 mg/mL; KS: Amphotericin (50 mg/mL)

Kết quả cho thấy cao chiết lá Liễu có khả năng ức chế sự phát triển của ba chủng nấm thử nghiệm là *A. brasiliensis*, *A. flavus* và *C. albicans* (Hình 3). Trên hình 3 và bảng 3 cho thấy hoạt tính ức chế nấm của cao chiết lá Liễu từ 10-50 mg/mL, hoạt tính ức chế sự phát triển của nấm tăng khi nồng độ cao chiết lá Liễu tăng lên. Tác dụng của cao chiết lá Liễu tốt nhất với chủng nấm *A. Flavus*, tiếp theo là *A. brasiliensis* và cuối cùng là chủng nấm *C. albicans*.

Bảng 3. Khả năng kháng nấm của cao chiết lá Liễu (đơn vị: mm)

Nấm \ Nồng độ	Amphotericin B 50 mg/mL	Cao chiết Liễu (10 mg/mL)	Cao chiết Liễu (25 mg/mL)	Cao chiết Liễu (50 mg/mL)
<i>A. brasiliensis</i>	19,1 ^a	5,0 ^b	16,3 ^c	20,2 ^d
<i>A. flavus</i>	20,0 ^a	4,3 ^b	10,3 ^c	28,2 ^d
<i>C. albicans</i>	19,5 ^a	6,2 ^b	14,1 ^c	18,7 ^a

Chú thích: Các giá trị mang chữ mũ khác nhau theo cột thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê với phép thử Duncan ($P < 0,05$)

3.4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá

Các gốc tự do và các phản ứng oxy hóa góp phần gây ra nhiều bệnh thoái hóa như viêm khớp, xơ gan, ung thư, Alzheimer và lão hóa. Chất chống oxy hóa có thể ngăn ngừa các gốc tự do cũng như các phản ứng oxy hóa. Nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng nhiều hợp chất hữu cơ như phenolic trong các bộ phận khác nhau của thực vật là một trong những nguồn tiềm năng để tách chiết tạo ra các chất có hoạt tính sinh học có hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa [21]. Có

hiều phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy, phương pháp DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) là một phương pháp thông dụng để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Sử dụng phương pháp DPPH đã xác định được hoạt tính oxy hóa của cao ethanol Liễu có giá trị $IC_{50} = 5,36 \mu\text{g/mL}$. Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu hoạt tính chống oxy trước đây của chúng tôi đối với cao chiết Liễu thu tại Thái Nguyên [15].

Theo nghiên cứu của Dissanayakea, tác giả đã đánh giá 6 hợp chất phenolic phân lập từ lá cây *Salix mucronata* bao gồm tremulacin, 2'-O-acetylsalicylic acid, salicylic acid, naringenin, chlorogenic acid và salicin. Kết quả cho thấy các chất 1, 2, 3 và 6 ức chế quá trình peroxy hóa lipid (LPO) ở nồng độ $5 \mu\text{g/mL}$ và ức chế enzyme cyclooxygenase (COX-1 và COX-2) ở nồng độ $25 \mu\text{g/mL}$ [22].

Trong nghiên cứu của Alam và cộng sự [23], cũng đã xác định hoạt tính chống oxy hóa của hoa *Salix caprea*. Kết quả cho thấy ở nồng độ $250 \mu\text{g/mL}$ ức chế được 85,04% gốc DPPH, nồng độ $500 \mu\text{g/mL}$ ức chế 45,97% O_2 , 17,79% H_2O_2 , 56,53% NO. Ngoài ra, kết quả còn cho thấy hoa *S. caprea* có hoạt tính chống oxy hóa và bảo vệ gan chuột thí nghiệm. Trong nghiên cứu của Wahab và cộng sự [24] về đánh giá hoạt tính oxy hóa của rễ thân lá loài *Salix babylonica*, kết quả cho thấy sử dụng các loại dung môi khác nhau trên rễ, thân và lá thì hoạt tính chống oxy hóa khác nhau, trong đó cao chiết sử dụng methanol làm dung môi cho kết quả chống oxy hóa tốt nhất, đồng thời cũng thu được hàm lượng phenolic cao nhất.

4. Kết luận

Sử dụng phương pháp GC/MS đã xác định được 26 hợp chất hữu cơ đã được định danh trong cao chiết ethanol lá Liễu. Trong đó lá Liễu thu hái tại tỉnh Bắc Kạn có 19 hợp chất và từ Thái Nguyên có 09 hợp chất. Trong cao chiết lá Liễu có 07 thành phần chính chiếm 68,57% thành phần các chất trong cao chiết. Cao chiết ethanol lá Liễu có hoạt tính tốt với 5 chủng vi khuẩn và 3 chủng nấm thử nghiệm, trong đó hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất đối với chủng *B. Subtilis*, hoạt tính kháng nấm tốt nhất đối với chủng nấm *A. brasiliensis*. Chiết xuất ethanol từ lá Liễu có hoạt tính ức chế sự phát triển của 3 chủng nấm thử nghiệm, trong đó tốt nhất là chủng nấm *A. Flavus*. Sử dụng phương pháp DPPH đã xác định được hoạt tính chống oxy hóa của cao ethanol Liễu là $5,36 \mu\text{g/mL}$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] A. Lauron-Moreau, F. E. Pitre, G. W. Argus, M. Labrecque, and L. Brouillet, "Phylogenetic relationships of American Willows (*Salix* L., Salicaceae)," *PLoS One*, vol. 10, pp. 1-12, 2015.
- [2] W. Li, L. Shi, L. Han, and J. Zhang, "Development and validation of a RP-HPLC method for simultaneous determination of salicin and eight flavonoids in leaves of *Salix matsudana* Koidz," *Acta Chromatogr*, vol. 25, pp. 735-743, 2013.
- [3] H. Singh, R. Raturi, and P. Badoni, "Isolation of Secondary Metabolites from the Roots of *Salix Babylonica*," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 225, 2017, Art. no. 12094.
- [4] C. Noleto-Dias, Y. Wu, A. Bellisai, W. J. Macalpine, M. H. Beale, and J. L. Ward, "Phenylalkanoic glycosides (non-salicinoids) from wood chips of *Salix triandra* × *dasyclados* hybrid willow," *Molecules*, vol. 24, 2019, Art. no. 1152.
- [5] Z. A. Shah, A. Hameed, A. Ahmed, S. U. Simjee, A. Jabeen, A. Ullah, and F. Shaheen, "Cytotoxic and anti-inflammatory salicin glycosides from leaves of *Salix acmophylla*," *Phytochem. Lett.*, vol. 17, pp. 107-113, 2016.
- [6] J. G. Mahdi, "Medicinal potential of willow: A chemical perspective of aspirin discovery," *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 14, pp. 317-322, 2010.
- [7] B. Altınterim, A. B. Ürünler, and İ. Paşa, "Effects of Willow bark (*Salix alba*) and its salicylates on blood coagulant," *Karaelmas Sci. Eng. J.*, vol. 3, pp. 37-39, 2013.
- [8] M. Sobeh, M. F. Mahmoud, S. Rezq, A. E. Alsemeh, O. M. Sabry, I. Mostafa, M. A. O. Abdelfattah, K. A. El-Allem, A. M. El-Shazly, A. Yasri, and M. Wink, "Salix tetrasperma Roxb. extract alleviates neuropathic pain in rats via modulation of the NF- κ B/TNF- α /NOX/iNOS pathway," *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, vol. 8, pp. 482-492, 2019.
- [9] K. Hostanska, G. Jürgenliemk, G. Abel, A. Nahrstedt, and R. Saller, "Willow bark extract (BNO1455)

- and its fractions suppress growth and induce apoptosis in human colon and lung cancer cells,” *Cancer Detect. Prev.*, vol. 31, pp. 129-139, 2007.
- [10] R. Jiao, Y. Cai, P. He, S. Munir, X. Li, Y. Wu, J. Wang, M. Xia, P. He, G. Wang, H. Yang, S. C. Karunarathna, Y. Xie, and Y. He, “Bacillus amyloliquefaciens YN201732 Produces Lipopeptides With Promising Biocontrol Activity Against Fungal Pathogen *Erysiphe cichoracearum*,” *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 11, 2021, Art. no. 598999.
- [11] I. Mostafa, H. A. Abbas, M. L. Ashour, A. Yasri, A. M. El-Shazly, M. Wink, and M. Sobeh, “Polyphenols from *Salix tetrasperma* impair virulence and inhibit quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa*,” *Molecules*, vol. 25, 2020, Art. no. 1341.
- [12] Y. Eftekhari, A. Rustaiyan, M. Monajjemi, and R. A. Khavarinejad, “Study of anti-retroviral effects of *Salix aegyptiaca* L Herbal extract on HIV-1 in vitro,” *Int. J. Mol. Clin. Microbiol.*, vol. 4, pp. 398-405, 2014.
- [13] F. Hadacek, H. Greger, Testing of antifungal natural products: Methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochem. Anal.* 2000, 11, 137–147.
- [14] J. Tabart, C. Kevers, J. Pincemail, J. O. Defraigne, and J. Dommes, “Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests,” *Food Chem.*, vol. 113, pp. 1226-1233, 2009.
- [15] P. H. Hoang, H. C. Pham, Q. T. Tu, and V. K. Pham, “Assessment of bioactivity of *Salix babylonica* extract in Thai Nguyen province,” *TNU J. Sci. Technol.*, vol. 228, pp. 348-353, pp. 348–353, 2023.
- [16] E. González-Alamilla, M. Rivas-Jacobo, C. Sosa-Gutiérrez, L. Delgadillo-Ruiz, B. Valladares-Carranza, C. Rosenfeld-Miranda, A. Zaragoza-Bastida, N. Rivero-Pérez, E. González-Alamilla, M. Rivas-Jacobo, C. Sosa-Gutiérrez, L. Delgadillo-Ruiz, B. Valladares-Carranza, C. Rosenfeld-Miranda, A. Zaragoza-Bastida, and N. Rivero-Pérez, “Antibacterial effect of the methanol extract of *Salix babylonica* against important bacteria in public Health,” *Abanico Vet.*, vol. 10, pp. 1-11, 2020.
- [17] J. Tienaho, D. Reshamwala, T. Sarjala, P. Kilpeläinen, J. Liimatainen, J. Dou, A. Viherä-Aarnio, R. Linnakoski, V. Marjomäki, and T. Jyske, “*Salix* spp. bark hot water extracts show antiviral, antibacterial, and antioxidant activities- the Bioactive properties of 16 clones,” *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 9, 2021, Art. no. 797939.
- [18] G. Wahab, A. Sallam, A. Elgaml, M. F. Lahloub, and M. Afif, “Antioxidant and antimicrobial activities of *Salix babylonica* extracts,” *World J. Pharm. Sci.*, vol. 6, pp. 1-6, 2018.
- [19] K. S. Kaye, J. J. Engemann, H. S. Fraimow, and E. Abrutyn, “Pathogens resistant to antimicrobial agents: Epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management,” *Infect. Dis. Clin. North Am.*, vol. 18, pp. 467-511, 2004.
- [20] A. R. Ndhlala, H. M. Ghebrehiwot, B. Ncube, A. O. Aremu, J. Gruz, M. Šubrtová, K. Doležal, C. P. du Plooy, H. A. Abdelgadir, and J. Van Staden, “Antimicrobial, anthelmintic activities and characterisation of functional phenolic acids of *Achyranthes aspera* Linn.: A medicinal plant used for the treatment of wounds and ringworm in east Africa,” *Front. Pharmacol.*, vol. 6, pp. 274-282, 2015.
- [21] D. Bajraktari, B. Bauer, and L. Zeneli, “Antioxidant capacity of *Salix alba* (Fam. Salicaceae) and influence of heavy metal accumulation,” *Horticulturae*, vol. 8, pp. 642-650, 2022.
- [22] A. A. Dissanayake, C. -R. Zhang, M. K. A. Gaber, and M. G. Nair, “Salicylic glycosides in *Salix mucronata* with antioxidant and antiinflammatory activities,” *Nat. Prod. Commun.*, vol. 12, pp. 1755-1758, 2017.
- [23] M. S. Alam, G. Kaur, Z. Jabbar, K. Javed, and M. Athar, “Evaluation of antioxidant activity of *Salix caprea* flowers,” *Phyther. Res.*, vol. 20, pp. 479-483, 2006.
- [24] G. Abdel Wahab, A. Sallam, A. Elgaml, M. Farid Lahloub, M. S. Afifi Antioxidant, and M. S. Afifi, World journal of pharmaceutical sciences antioxidant and antimicrobial activities of *Salix babylonica* extracts,” *World Journal of Pharmaceutical Sciences.*, vol. 6, pp. 1-47, 2018.