Separation of active constituents in some medicinal plants by thin layer chromatography

Tien T. Tran, Nhan T. T. Nguyen, Tien T. Ha, & Lan T. Q. Tran*

Department of Veterinary Biosciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: April 02, 2018

Revised: April 20, 2018

Accepted: April 23, 2018

Keywords

Camellia sinensis

Citrus aurantifolia

Constituent

Rhodomyrtus tomentosa

Thin Layer Chromatography (TLC)

*Corresponding author

Tran Thi Quynh Lan

Email: lan.tranthiquynh@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Separation and identification of the active pharmacological compounds from some medicinal plants (*Citrus aurantifolia*, *Rhodomyrtus tomentosa*, *Camellia sinensis*) by Thin Layer Chromatography (TLC) showed the yields of crude extracts obtained from *Citrus aurantifolia*, *Rhodomyrtus tomentosa* and *Camellia sinensis* leaves at 1.5%, 5.62% and 10.4% respectively. Toluene: ethyl acetate (93:7) (v:v) solvent was suitable for the separation of active compounds in crude extract of *Citrus aurantifolia*, *Rhodomyrtus tomentosa* leaves while chloroform: ethyl acetate: formic acid (5:4:1) (v:v:v) solvent was suitable for the extraction of active compounds in crude extract from *Camellia sinensis* leaves. Furthermore, the results showed that the number of compounds in extract from *Citrus aurantifolia* were likely affected by the vacuum evaporator effects. The TLC fingerprints of all three medicinal plants had the same visual ability when the fingerprint detected by UV ($\lambda = 254$ nm) and the reagent containing 0.1 g vanillin in 28 mL of methanol: 1 mL of sulfuric acid. In brief, the three active compounds including citral (*Citrus aurantifolia*), rhodomyrtone (*Rhodomyrtus tomentosa*) and catechin hydrate (*Camellia sinensis*) contained in the extract of 3 medicinal herbs had the limited detection (LOD) at 195 ng/spot, 321.5 ng/spot and 625 ng/spot, respectively.

Cited as: Tran, T. T., Nguyen, N. T. T., Ha, T. T., & Tran, L. T. Q. (2018). Separation of active constituents in some medicinal plants by thin layer chromatography. *The Journal of Agriculture and Development* 17(5), 60-67.

Phân tách thành phần hoạt chất một số cây dược liệu bằng phương pháp sắc ký bản mỏng

Trần Thanh Tiến, Nguyễn Trần Thảo Nhân, Hà Thị Tiền & Trần Thị Quỳnh Lan^{1*}

Bộ Môn Khoa Học Sinh Học Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo tổng quan

Ngày nhận: 02/04/2018

Ngày chỉnh sửa: 20/04/2018

Ngày chấp nhận: 23/04/2018

Từ khóa

Chanh

Hoạt chất

Sim

Thin Layer Chromatography (TLC)

Trà xanh

*Tác giả liên hệ

Trần Thị Quỳnh Lan

Email: lan.tranthyquynh@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Phân tách và xác định một số hoạt chất có tác động dược học từ chiết xuất của một số cây dược liệu (chanh, sim và trà xanh) bằng kỹ thuật sắc ký bản mỏng (Thin Layer Chromatography, TLC) cho thấy hiệu suất khi thu hồi cao từ lá chanh, lá sim và lá trà xanh ở mức 1,5%, 5,62% và 10,4%. Hệ dung môi toluen: ethyl acetate (93:7) (v:v), phù hợp để phân tách các hoạt chất trong cao thô chiết xuất từ lá chanh và lá sim; hệ dung môi chloroform: ethyl acetate: acid formic (5:4:1) (v:v:v) phù hợp trong phân tách hoạt chất trong cao thô chiết xuất từ lá trà xanh. Ngoài ra, cô quay chân không có thể làm thay đổi số lượng các hoạt chất trong thành phần dịch chiết lá chanh. Sắc ký đồ của dịch chiết lá chanh, sim và trà xanh cho kết quả tương đương khi phát hiện trên bản mỏng sắc ký bằng buồng soi UV ($\lambda = 254$ nm) và thuốc thử 0,1 g vanillin trong 28 mL methanol: 1 mL sulfuric acid. Ba hoạt chất có đặc tính dược học bao gồm citral (chanh), rhodomertone (sim) và catechin hydrate (trà xanh) có trong thành phần phân tách chiết của 3 dược liệu có giới hạn phát hiện (LOD) ở mức 195 ng/vệt, 321,5 ng/vệt và 625 ng/vệt sắc ký đồ.

1. Đặt Vấn Đề

Sử dụng cây dược liệu trong phòng và trị bệnh trên vật nuôi đang là một trong những giải pháp được quan tâm nhằm thay thế cho nhiều dược phẩm và kháng sinh đã bị đề kháng (Sibanda & ctv., 2007; Matthew & ctv., 2017).

Nguồn cây dược liệu ở các quốc gia nhiệt đới như Việt Nam rất phong phú và đa dạng (Do, 2004). Tuy nhiên, việc tận dụng các nguồn dược liệu sẵn có này trong lĩnh vực chăn nuôi thú y hiện nay vẫn còn giới hạn về chủng loại cây dược liệu. Nguyên nhân chính làm giới hạn khả năng sử dụng cây dược liệu là do thành phần và hàm lượng các hoạt chất có khả năng kháng khuẩn, kháng viêm và các tác dụng dược lực khác (kể cả độc tính) của các dược liệu này vẫn chưa được hiểu rõ do hạn chế về phương pháp phân tích. Một số phương pháp truyền thống (soi vi phẫu, hóa học,...) cho kết quả có độ chính xác chưa cao trong khi các phương pháp hiện đại khác như

sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) lại cần nhiều trang thiết bị, chất chuẩn đối chiếu, thao tác khá phức tạp và đắt tiền. Nhu cầu đặt ra là cần phải có một phương pháp thực hiện đơn giản hơn, chi phí thấp nhưng cho kết quả chính xác và có độ tin cậy cao.

Sắc ký lớp mỏng (thin layer chromatography) là một trong những phương pháp ứng dụng thường xuyên trong phân tích và kiểm nghiệm dược liệu vì có những ưu điểm như dễ thực hiện, độ nhạy và đặc hiệu cao, thời gian phân tích nhanh và chi phí phân tích thấp so với các phương pháp khác (Wagner & Bladt, 1996; Ashray, 2012). Sử dụng phương pháp TLC để phân tách thành phần hoạt chất của 3 loại cây (trà xanh, chanh và sim) và xác định một loại hoạt chất chính có hoạt tính dược lực (citral, catechin, rhodomertone) trong từng loại cây này sẽ đem đến khả năng ứng dụng trong thú y để thay thế các dược phẩm và tăng giá trị kinh tế của các cây dược liệu sẵn có.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Chuẩn bị mẫu

Nguyên liệu: lá chanh ta (*Citrus aurantifolia*), lá sim (*Rhodomyrtus tomentosa*), lá trà xanh (*Camellia sinensis*) có nguồn gốc từ tỉnh Lâm Đồng. Nguyên liệu sau đó được rửa sạch dưới vòi nước, để ráo nước ở nhiệt độ phòng, sau đó xay nhỏ.

2.2. Chiết xuất hoạt chất từ cây dược liệu

Chiết xuất hoạt chất từ cây dược liệu được thực hiện theo phương pháp ngâm với dung môi chiết xuất acetone. Đầu tiên, cân chính xác 50 g mẫu đã chuẩn bị cho vào bình tam giác (1.000 mL), tiếp tục cho thêm 500 mL acetone (Xilong, Trung Quốc) (Eloff, 1988). Bình chứa hỗn hợp dung dịch sau đó được lắc đều, lọc bằng giấy lọc (Hangzhou Special Paper Industry, Trung Quốc); dịch qua lọc (dịch chiết) được thu nhận và bảo quản trong bình thủy tinh (1.000 mL) ở 4°C.

Dịch chiết dược liệu của mỗi loại nguyên liệu được chia thành hai phần thể tích bằng nhau. Một phần được loại bỏ dung môi bằng hệ thống cô quay chân không (Stuart, Anh) (Auemphon & ctv., 2015) ở điều kiện nhiệt độ phòng để thu nhận cao thô nhằm đánh giá sự biến đổi thành phần hoạt chất của dịch chiết dược liệu dưới tác động của cô quay chân không; phần dịch chiết còn lại sẽ sử dụng trực tiếp để phân tích bằng phương pháp TLC.

Hiệu suất cao thô (%) = $\frac{m \times 100}{0,5 \times M}$ (Charles, 2012)

Trong đó:

m: trọng lượng cao thô thu được sau khi cô quay chân không.

M: trọng lượng mẫu dược liệu ban đầu.

2.3. Phân tách thành phần hoạt chất từ chiết xuất cao thô bằng phương pháp TLC

2.3.1. Pha loãng cao thô

Cao thô thu nhận sau cô quay được pha loãng thành nồng độ 20 mg/mL bằng acetone (Eloff & ctv., 2011) sau đó được lọc qua đầu lọc có đường kính 0,22 μ m để chuẩn bị thực hiện sắc ký.

2.3.2. Phương pháp thực hiện

Cao thô (nồng độ 20 mg/mL) hoặc dịch chiết tươi của các loại dược liệu được phun lên bề mặt bản mỏng aluminium backed silica gel 60 F254 (Merck, Đức) (Eloff & ctv., 2011) trên hệ thống máy sắc ký bản mỏng bán tự động (Camag, Thụy Sĩ), thể tích phun 5 μ L/vết, tốc độ phun 250 nL/giây, độ rộng vết phun 8 mm (Hướng dẫn sử dụng Camag, Thụy Sĩ). Bản mỏng sau khi được phun mẫu được để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, sau đó được đặt trong bình hai đáy kích thước 20 $\times$ 10 cm chứa dung môi khai triển cho phép các hoạt chất trong mẫu di chuyển và phân tách trên bản mỏng tùy theo độ phân cực. Khả năng phân tách hoạt chất được đánh giá trên hai hệ dung môi khai triển dùng ngâm bản mỏng: (1) chloroform: ethylacetate: acid formic (5:4:1) (v:v:v) (CEF) (Eloff & ctv., 2011) và (2) toluen: ethylacetate (93:7) (v:v) (TE) (Wagner & Bladt, 1996).

2.3.3. Đọc kết quả TLC

Kết quả phân tách hoạt chất trên sắc ký đồ được quan sát bằng buồng soi UV (Camag, Thụy Sĩ) với bước sóng 254 nm (VPC, 2009) hoặc quan sát bằng mắt thường sau khi phun thuốc thử vanillin 0,1 g trong 28 mL methanol: 1 mL sulfuric acid (Eloff & ctv., 2011).

2.4. Xác định sự hiện diện hoạt chất chính có tác dụng dược lý từ thành phần chiết xuất của mỗi loại cây dược liệu

2.4.1. Chọn hoạt chất chính có hoạt lực dược lý cho mỗi loại chiết xuất dược liệu

Hoạt chất chính có tác dụng dược lý có trong dịch chiết từ mỗi loại cây dược liệu được lựa dựa trên hoạt tính kháng khuẩn. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy rhodomyrtone có trong cao chiết từ lá sim có hiệu quả kháng khuẩn tốt đối với một số vi khuẩn gram dương (Surasak & ctv., 2009; Hiranrat, 2010; Surasak & ctv., 2012) đặc biệt là *S. aureus* kháng methicillin (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - EMRSA), *S. aureus* kháng vancomycin (vancomycinintermediate *Staphylococcus aureus* - VSA) và enterococcus kháng vancomycin (vancomycinresistant enterococcus - VRE) (Sukanlaya & ctv., 2013). Ngoài ra, các loại catechin trong trà xanh đã được chứng minh là có tác dụng gây tổn hại màng tế bào, ức chế quá trình tổng hợp acid béo và ức chế hoạt động một số loại enzyme của vi khuẩn (Wanda,

2014). Bên cạnh đó, tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm của citral trong lá chanh cũng được chứng minh trong nhiều nghiên cứu khác nhau (Grace, 1989; Maria & ctv., 2014; Chao & ctv., 2016).

2.4.2. Chất chuẩn đối chiếu

Các chất chuẩn bao gồm: citral (ci) (tinh khiết 95%) (C83007, Sigma, Mỹ), rhodomyrtone (rh) (tinh khiết $\geq 95\%$) (SMB00114, Sigma, Mỹ) và catechin hydrate (ca) (tinh khiết $\geq 98\%$) (C1252, Sigma, Mỹ) lần lượt được chọn làm chất chuẩn đối chiếu khi xác định sự hiện diện của các hoạt chất này trong dịch chiết thô của lá chanh, lá sim và lá trà xanh.

Các chất chuẩn được pha loãng trong acetone theo 12 mức nồng độ chuẩn từ cao đến thấp (catechin hydrate: $2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$... $0,001 \mu\text{g}/\mu\text{l}$; citral: $20 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$... $0,01 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ và rhodomyrtone: $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $0,5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$... $0,0004 \mu\text{g}/\mu\text{l}$).

Các dãy chất chuẩn có nồng độ giảm dần này được dùng trong xác định giới hạn phát hiện (Limit Of Detection, LOD) của các chất này theo phương pháp TLC. Giới hạn phát hiện của một chất (LOD) được xác định là nồng độ pha loãng cuối cùng tính trên 1 vết sắc ký mà vẫn có thể phát hiện được trong một điều kiện thực hiện sắc ký nhất định. Giới hạn phát hiện được khẳng định bằng cách thực hiện TLC lặp lại 10 lần đối với mức nồng độ được xác định là LOD.

2.4.3. Phương pháp xác định sự hiện diện hoạt chất chính có tác dụng dược lý trong dịch chiết

Sự hiện diện của hoạt chất có tác dụng dược lý (citral, rhodomyrtone, catechin) trong mẫu cao chiết được xác định dựa vào việc so sánh hệ số di chuyển R_f của vết sắc ký với hệ số R_f của chất chuẩn đối chiếu.

Giới hạn phát hiện của citral, rhodomyrtone, catechin, cũng được xác định trong điều kiện sắc ký tối ưu đối với từng loại dược liệu.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Hiệu suất cao thô

Hiệu suất cao thô của các dược liệu khảo sát được trình bày trong Bảng 1. Kết quả cho thấy hiệu suất cao thô của lá trà xanh ở mức 10,4% cao hơn gấp 1,85 lần hiệu suất cao thô thu nhận từ

lá sim và gấp 6,9 lần hiệu suất cao thô thu nhận từ lá chanh. Theo Eloff & ctv. (2011), được liệu khi chiết bằng acetone có số lượng hợp chất chiết được cao hơn khi chiết bằng các phương pháp và dung môi khác được đề nghị trong dược điển về thảo dược của Anh. Tuy nhiên, nghiên cứu của Asadhawut (2010) ghi nhận hiệu suất chiết cao thô từ lá sim trong dung môi acetone (2,22%) thấp hơn so với khi chiết trong cồn (methanol) (5,31%). Ngoài ra, hiệu suất cao thô còn phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố khác nhau như thời điểm thu hái, trạng thái nguyên liệu (tươi/khô), phương pháp chiết...

Bảng 1. Hiệu suất của các loại cao thô

Dược liệu	Hiệu suất cao thô (%)
Chanh	1,50
Sim	5,62
Trà xanh	10,40

3.2. Phân tách thành phần hoạt chất từ chiết xuất cao thô bằng phương pháp TLC

3.2.1. Ảnh hưởng của cô quay chân không đến số lượng hoạt chất có trong thành phần dịch chiết

Kết quả phân tách trên bản mỏng cho thấy không có sự khác biệt số lượng các hoạt chất trong dịch chiết lá sim và lá trà xanh khi sử dụng cô quay chân không để loại bỏ dung môi chiết xuất ở điều kiện nhiệt độ phòng (Bảng 2). Trong khi đó, nếu sử dụng bước loại bỏ dịch chiết bằng cô quay chân không cho kết quả phân tách các hoạt chất từ chiết xuất sim và trà xanh rõ nét và đậm màu hơn (Hình 1).

Bảng 2. Số lượng hoạt chất (số vết) trong dịch chiết dược liệu khi phân tách bằng TLC

Dược liệu	Dung môi khai triển	Số vết sắc ký phát hiện	
		Cô quay	Không cô quay
Chanh	TE	4	9
Sim	TE	10	10
Trà xanh	CEF	11	11

Trái lại, khi phân tách thành phần hoạt chất từ chiết xuất lá chanh cho thấy có sự khác biệt rõ rệt trên sắc ký đồ giữa mẫu dịch chiết lá chanh thu nhận sau cô quay chân không và dịch chiết

Hình 1. Kết quả phân tách hoạt chất trên sắc ký đồ của dịch chiết từ lá sim (I) và trà xanh (II) trải qua cô quay chân không (C) và không cô quay chân không (K) quan sát bằng UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

tươi không qua cô quay chân không (Hình 2). Mẫu dịch chiết lá chanh qua cô quay chân không (Hình 2C) cho kết quả phân tách trên bản mỏng với số vết sắc ký (4 vết, mỗi vết tương ứng với một hoạt chất) thấp hơn số vết sắc ký khi phân tách từ mẫu dịch chiết lá chanh không qua cô quay chân không (Hình 2K) (9 vết sắc ký). Đồng thời, kết quả Hình 2 cũng cho thấy duy nhất chỉ có thể phát hiện được citral (một loại hoạt chất sinh học có tác dụng diệt khuẩn) khi thực hiện TLC với mẫu dịch chiết không cô quay chân không.

Hình 2. Sắc ký đồ của dịch chiết từ lá chanh trải qua cô quay chân không (C) và không cô quay chân không (K) khi khai triển trong TE và quan sát bằng UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

3.2.2. Kết quả phân tách hoạt chất từ chiết xuất cây dược liệu theo loại dung môi khai triển sắc ký

Sử dụng dung môi khai triển sắc ký là bước quan trọng quyết định khả năng phân tách trên bản mỏng những hoạt chất trong thành phần chiết xuất của dược liệu. Trong nghiên cứu này, chiết xuất từ cao thô lá chanh và lá sim cho kết quả phân tách tốt hơn khi khai triển trong dung môi TE so với khi sử dụng dung môi CEF. Số lượng các vết sắc ký trong mẫu cao thô lá chanh và lá sim đều cho kết quả cao hơn khi khai triển bằng dung môi TE (9 và 10 vết) so với dung môi CEF (5 và 7 vết) (Hình 3.I và 3.II). Trái lại, sắc ký đồ của cao thô lá trà xanh khi khai triển trong CEF cho kết quả phân tách tốt hơn so với khai triển trong TE. Số lượng các vết sắc ký trong mẫu cao thô lá trà xanh có thể phát hiện được khi khai triển trong các hệ dung môi CEF và TE lần lượt là 11 và 4 (Hình 3.III). Khả năng phân tách của các hệ dung môi tùy thuộc vào tính phân cực của các chất, hợp chất có trong dịch chiết. Nghiên cứu của Eloff & ctv. (2011) cho thấy hệ dung môi CEF thích hợp nhất khi phân tách các chất hợp chất có tính phân cực trung bình. Trong khi Wagner & Bladt (1996) khẳng định hệ dung môi TE thích hợp dùng trong phân tích và so sánh tất cả các tinh dầu thiết yếu quan trọng (trong đó có citral). Như vậy, dựa vào kết quả trên, TE sẽ được chọn làm hệ dung môi khai triển khi thực hiện sắc ký đối với mẫu cao thô lá chanh và sim; trong khi CEF sẽ được chọn làm hệ dung môi khai triển khi thực hiện sắc ký đối với mẫu cao thô lá trà xanh trong các thử nghiệm tiếp theo.

Hình 3. Kết quả phân tách thành phần hoạt chất từ cao thô của lá chanh (I), lá sim (II) và lá trà xanh (III) quan sát với UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

3.3. Xác định sự hiện diện hoạt chất chính có tác dụng dược lý từ thành phần chiết xuất của mỗi loại cây dược liệu

Kết quả nghiên cứu (Hình 4 và 5) cho thấy khả năng phát hiện sự hiện diện của citral, catechine hydrate và rhodomyrtone trong chiết xuất của các loại dược liệu dùng trong nghiên cứu bằng kỹ thuật TLC. Kết quả này cũng cho thấy khả năng phát hiện citral, rhodomyrtone và catechin hydrate tương đương nhau khi quan sát bằng UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$) cũng như bằng mắt thường với thuốc thử vanillin. Sự hiện diện của các hoạt chất có hoạt tính dược học (citral, catechine hydrate và rhodomyrtone) cũng được khẳng định qua hệ số di chuyển trên bản mỏng (Rf) khi so sánh với chất chuẩn của 3 hoạt chất này (Bảng 3).

Hình 4. Kết quả phân tách thành phần hoạt chất từ cao thô của lá chanh (I), lá sim (II) và lá trà xanh (III) quan sát với UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

Hình 5. Sắc ký đồ của cao thô chiết bằng acetone từ lá chanh (I), lá sim (II) và lá trà xanh (III) quan sát sau khi phun thuốc thử.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy khả

Bảng 3. Giá trị Rf của các hoạt chất chính có hoạt lực dược học trong thành phần chiết xuất từ 3 loại cây dược liệu

Tên hoạt chất	Dung môi khai triển	Rf
Catechin hydrate	CEF	0,23
Citral	TE	0,38
Rhodomyrtone	TE	0,43

năng ứng dụng phương pháp TLC trong phát hiện những hoạt chất có giá trị trong dược học. Các loại catechine trong trà xanh có khả năng kháng lại đối với cả vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm. Đặc biệt, epigallo-catechin galate (EGCG) được chứng minh có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn nhiễm trùng đường miệng trên chó và ngăn cản sự hình thành màng sinh học (biofilm) của *Streptococcus mutan* (Lanlan & ctv., 2016). Ngoài ra, các dẫn xuất khác nhau của catechine đã được chứng minh có tác dụng làm giảm số lượng bào tử sinh ra từ vi khuẩn kỵ khí như *Clostridium botulinum* và *Clostridium butyricum* (Yukiko & ctv., 2005). Nhiều nghiên cứu đã báo cáo về khả năng kháng khuẩn đặc hiệu của rhodomyrtone trong dịch chiết lá sim đối với các vi khuẩn Gram dương và quan trọng hơn là hoạt chất này có tác dụng trên cả các vi khuẩn đã đề kháng với nhiều loại kháng sinh. Rhodomyrtone sử dụng thực nghiệm trong nhiều nghiên cứu khác nhau cho thấy có tác dụng giảm sự xâm lấn và bám dính của vi khuẩn trong mô dưới da của bầu vú bò, điều này giúp điều trị bệnh viêm vú trên bò sữa ở thể lâm sàng và cận lâm sàng (Surasak & ctv., 2012; Sukanlaya & ctv., 2013; Mordmuang & ctv., 2015). Chính vì vậy, hoạt chất này được đánh giá như là một loại thuốc kháng sinh mới có nguồn gốc từ tự nhiên (Surasak & ctv., 2009). Ngoài ra, citral cũng được chứng minh có khả năng ức chế sự phát triển đối với cả vi khuẩn Gram dương, Gram âm và nấm (Grace, 1989).

Giới hạn phát hiện (LOD) của citral, rhodomyrtone và catechin hydrate trong phương pháp được xác định ở các mức 195 ng/vet, 321,5 ng/vet và 625 ng/vet (Hình 6). Nghiên cứu của Dinesh & ctv. (2015) cho kết quả LOD của catechin là 13,37 ng/vet khi sử dụng phương pháp HPTLC (High-performance thin-layer chromatography) trong phân tích thành phần của trà xanh. Bước đầu cho thấy với phương pháp TLC, hàm lượng của hoạt chất trong chiết xuất cần ở mức cao hơn để có thể xác định sự hiện diện của hoạt chất trong thành phần cây dược liệu.

Hình 6. Sắc ký đồ của cao thô chiết bằng acetone từ lá chanh (I), lá sim (II) và lá trà xanh (III) quan sát sau khi phun thuốc thử.

4. Kết Luận và Đề Nghị

Trong phạm vi nghiên cứu này thuật TLC cho thấy khả năng phân tách tốt thành phần hoạt chất có trong chiết xuất từ cây dược liệu và cho phép xác định hoạt chất có hoạt tính được lực trong thành phần dịch chiết dựa vào chất chuẩn và chỉ số R_f. Những nghiên cứu tiếp theo cần chuẩn hoá thêm một số thông số về dung môi chiết xuất và khai triển phù hợp cho mỗi loại cây dược liệu để có thể sử dụng phương pháp TLC trong phân tích thành phần nhiều loại cây nguyên liệu có giá trị dược học tại Việt Nam.

Lời Cảm Ơn

Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn quý nghiên cứu Khoa học và công nghệ, Trường Đại học Nông Lâm, TP.HCM; Khoa Chăn nuôi - Thú y; Bộ môn Khoa học Sinh học Thú y đã tài trợ và tạo điều kiện để nhóm thực hiện nghiên cứu này. Đồng thời, nhóm nghiên cứu xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến các bạn Lâm Ánh Tuyết, Nguyễn Thị Họa Mĩ và Nguyễn Thị Ngân Giang đã tích cực hỗ trợ cho nghiên cứu này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Asadhawut, H. (2010). *Chemical Constituents from Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk and antibacterial activity* (Unpublished doctoral dissertation). Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand.
- Ashray, G. (2012). *Extraction, purification, identification and estimation of catechins from Camellia sinensis* (Unpublished bachelor's thesis). Institute of Himalayan Bioresource Technology (IHBT), Palampur, India.

Auemphon, M., Shiv, S., Usa, C., & Voravuthikunchai, S. P. (2015). Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract on staphylococcal adhesion and invasion in bovine udder epidermal tissue model. *Nutrients* 7(10), 8503-8517.

Chao, S., Kaikuo, S., Xiaorong, Z., Yi, S., Yue, S., Yifei, C., Zhenyu, J., Huihui, S., Zheng, S., & Xiaodong, X. (2016). Antimicrobial activity and possible mechanism of action of citral against *Cronobacter sakazakii*. *PLoS One* 11(7), e0159006.

Charles, L., & Kayanja, I. B. F. (2012). *Vitro* antimicrobial activity of crude extracts of *Erythrina abyssinica* and *Capsicum annum* in poultry diseases control in the South Western Agro-Ecological zone of Uganda. In Perez-Marin, C. C. (Ed.). *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine* (ed., 597-614). London, United Kingdom: InTech.

Dinesh, K., Ashu, G., & Upendra, S. (2015). Determination of theanine and catechin in *Camellia sinensis* (Kangra tea) leaves by HPTLC and NMR techniques. *Food Analytical Methods* 9(6), 1666-1674.

Do, L. T. (2004). *Medicinal plants and herbs in Vietnam*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.

Eloff, J. N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology* 60(1), 1-8.

Eloff, J. N., Ntloedibe, D. T., & van Brummelen, R. (2011). A simplified but effective method for the quality control of medicinal plants by planar chromatography. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 8(S), 1-12.

Grace, O. O. (1989). Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Letters in Applied Microbiology* 9(3), 105-108.

Hiranrat, A. (2010). *Chemical constituent from Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk. and antibacterial activity* (Doctoral Thesis). Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand.

Lanlan, B., Shiaki, T., Tasuke, A., Hiroshi, Y., Kumiko, I., Hiroyuki, M., & Emiko, I. (2016). Antimicrobial activity of tea catechin against canine oral bacteria and the functional mechanisms. *The Journal of Veterinary Medical Science* 78(9), 1439-1445.

Maria, C. A. L., André, P. B. B., Janiere, P. S., Felipe, Q. S. G., & Edeltrudes, O. L. (2014). Evaluation of antifungal activity and mechanism of action of citral against *Candida albicans*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014, 1-9.

Matthew, J. C., Aishwarya, I., Baxter, B., & Ian, E. C. (2017). Developing new antimicrobial therapies: are synergistic combinations of plant extracts/compounds with conventional antibiotics the solution?. *Pharmacognosy Reviews* 11(22), 57-72.

Mordmuang, A., Shankar, S., Chethanond, U., & Voravuthikunchai, S. P. (2015). Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract on staphylococcal adhesion and

- invasion in bovine udder epidermal tissue model. *Nutrients* 7(10), 8503-8517.
- Sibanda, T., & Okoh, A. I. (2007). The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *African Journal of Biotechnology* 6(25), 2886-2896.
- Sukanlaya, L., Peter, W. T., & Voravuthikunchai S. P. (2013). Antibacterial mechanisms of rhodomyrtone against important hospital-acquired antibiotic-resistant pathogenic bacteria. *Journal of Medical Microbiology* 62(Pt 1), 78-85.
- Surasak, L., Erik, N. T., Thijs, R. H. M. K., Sjouke, P., Hiranrat, A., Mahabusarakam, W., Voravuthikunchai, S. P., Jan, M. V. D., & Kayser, O. (2009). Rhodomyrtone: a new candidate as natural antibacterial drug from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Phytomedicine* 16(6-7), 645-651.
- Surasak, L., Oliver, K., & Voravuthikunchai, S. P. (2012). Antibacterial activity of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaf extract against clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012, 1-6.
- VPC (Vietnam Pharmacopoeia Center). (2009). *Vietnamese pharmacopoeia IV*. Ha Noi, Vietnam: Ministry of Health.
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis; A thin layer chromatography atlas* (2nd ed.). Berlin, Germany: Springer.
- Wanda, C. R. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in Microbiology* 5, 434.
- Yukiko, H. K., Akiko, Y., Miho, S., Tsutomu, O., Yuji, M., Minoru, H., Kazuo, K., & Yoshiko, S. K. (2005). Antibacterial action on pathogenic bacterial spore by green tea catechins. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85(14), 2354-2361.