

Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá loài Mộc hương balansae (*Aristolochia balansae* Franch.)

Lưu Đàm Ngọc Anh^{1,2*}, Bùi Văn Hướng^{1,2}, Đỗ Văn Trường¹, Nguyễn Thị Kiều Oanh³

¹Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học KH&CN Hà Nội, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/7/2022; ngày chuyển phản biện 4/7/2022; ngày nhận phản biện 26/7/2022; ngày chấp nhận đăng 29/7/2022

Tóm tắt:

Mộc hương balansae (*Aristolochia balansae* Franch.) thuộc phân chi *Siphisia* họ Mộc hương (*Aristolochiaceae*) là loài đặc hữu hẹp, phân bố ở miền Bắc Việt Nam. Nghiên cứu lần đầu tiên xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá được thu tại huyện Bá Thước, tỉnh Thanh Hóa vào tháng 11/2021. Tinh dầu thu nhận được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước sử dụng thiết bị Clevenger và phân tích bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ (GC-MS). Hàm lượng tinh dầu thu được ở lá là 0,15% trọng lượng tươi, tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Thành phần tinh dầu xác định được 63 hợp chất chiếm 78,58% tổng hàm lượng tinh dầu. Thành phần chủ yếu là các sesquiterpen và sesquiterpen chứa ôxy. Các thành phần chính gồm γ -eudesmol (6,98% tổng hàm lượng tinh dầu), α -humulene (6,22%), β -selinene (4,5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (3,53%), α -trans-bergamotene (3,27%), Limonene (3,02%). Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật từ tinh dầu lá có tác dụng thấp đối với các chủng vi sinh vật đối kháng ở nồng độ 10%.

Từ khóa: *Aristolochia balansae* Franch., GC-MS (sắc ký khí - khối phổ), kháng vi sinh vật, sesquiterpen, tinh dầu.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.6

1. Mở đầu

Chi Mộc hương (*Aristolochia*) gồm khoảng hơn 600 loài với 3 phân chi *Aristolochia*, *Siphisia* và *Pararistolochia*. Đây là chi lớn nhất trong họ Mộc hương (*Aristolochiaceae*) thuộc bộ Hồ tiêu (*Piperales*), phân bố rộng chủ yếu ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và một số vùng ôn đới [1-3]. Ở khu vực châu Á, nam Trung Quốc và Việt Nam được coi là những trung tâm đa dạng các loài thuộc chi *Aristolochia* [4-6]. Phần lớn các loài thuộc chi *Aristolochia* là nguồn thức ăn cho sâu non của nhiều loài bướm Phượng thuộc họ *Papilionidae* [7]. Bên cạnh đó, nhiều loài cũng được sử dụng làm thuốc chữa các bệnh như thủy thũng, phong thũng, cước khí thấp thũng [8, 9]. Đồng thời, các loài thuộc chi này cũng được coi như một nguyên liệu trong điều trị chống ung thư, chống viêm, điều trị bệnh tả, các vấn đề về da và các loại vết cắn, đốt khác nhau của động vật và côn trùng... [10].

Từ những giá trị y học cổ truyền đó, một số nghiên cứu về giá trị sử dụng của các loài thuộc chi *Aristolochia* trên thế giới đã sử dụng phương pháp chiết xuất các hoạt tính từ các bộ phận khác nhau của cây để nghiên cứu về các khía cạnh dược lý của các loài thuộc chi này. Kết quả đã chỉ ra nhiều loài có khả năng kháng ung thư, kháng vi khuẩn, chống oxy hóa, kháng nọc độc rắn, kháng viêm như *A. bracteolata*, *A. indica*, *A. longa*, *A. fordiana*, *A. ringens* [11-16].

*Tác giả liên hệ: Email: ngocanh@vnmn.vast.vn

Ở Việt Nam, Mộc hương balansae có tên khoa học là *Aristolochia balansae* Franch. thuộc phân chi *Siphisia*, được Franchet mô tả năm 1898 là loài đặc hữu hẹp, phân bố ở Hà Nội, Ninh Bình, Thanh Hóa, miền Bắc Việt Nam [17-19]. Theo V.V. Chi (2012) [9], vỏ thân của loài Mộc hương balansae được dùng để chữa li, bí tiểu tiện, có khi còn được dùng chữa thấp khớp. Cho đến nay, ngoài công trình của N.Q. Bình và cs (2021) [20], L.H. Truong và cs (2020) [21] nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu từ lá, thân và rễ của loài *A. petelotii* cũng như thành phần độc tế bào từ loài *Isotrema tadungensis*, chúng tôi chưa nhận thấy có nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu loài *A. balansae* và hoạt tính kháng vi sinh vật của chúng. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu và hoạt tính kháng vi sinh vật của loài *A. balansae* thu tại huyện Bá Thước, tỉnh Thanh Hóa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá của loài Mộc hương balansae thu vào ngày 30/11/2021 tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Pù Luông (Thanh Hóa), ký hiệu mẫu là Aristo 6 (hình 1). Mẫu được xác định tên bởi Đỗ Văn Trường - Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam. Tiêu bản được lưu giữ tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam.

Chemical components and antimicrobial activity of essential oil from leaf of *Aristolochia balansae* Franch.

Dam Ngoc Anh Luu^{1,2*}, Van Huong Bui^{1,2},
Van Truong Do¹, Thi Kieu Oanh Nguyen³

¹Vietnam National Museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

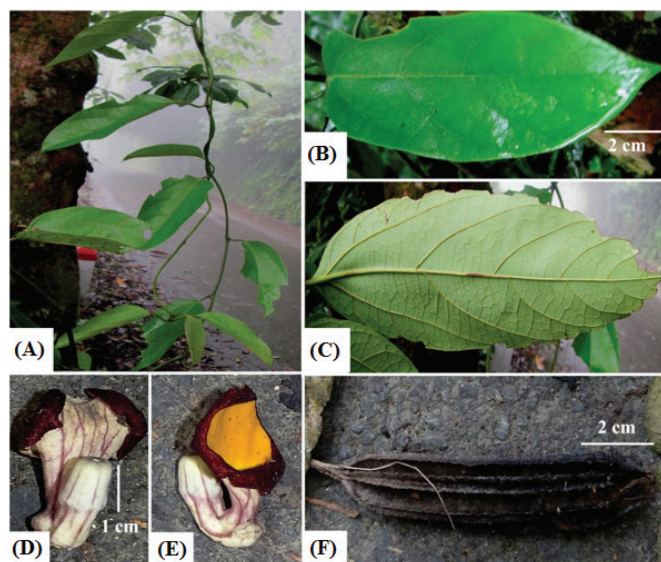
Received 1 July 2022; revised 26 July 2022; accepted 29 July 2022

Abstract:

Aristolochia balansae Franch. belonging to *Aristolochia* subgenus *Siphisia* (*Aristolochiaceae*) is rarely distributed in Northern Vietnam. This study is the first time to determine the chemical composition and antimicrobial activity from essential oils of leaves collected in Ba Thuoc district, Thanh Hoa province in November 2021. The essential oils from the leaves of *A. balansae* were obtained by hydrodistillation using Clevenger-type apparatus and analysed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. The yield of the essential oil was 0.15% of fresh weight, the essential oil is light yellow, lighter than water. Sixty-three components were identified, which present 78.58% of the total composition of the leaf's essential oil. The main components were sesquiterpenes and oxygenated sesquiterpenes. The constituents occurring in higher amounts in the essential oil were γ -Eudesmol (6.98% of the total composition of the leaf's essential oil), α -Humulene (6.22%), β -Selinene (4.5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (3.53%), α -trans-Bergamotene (3.27%), and Limonene (3.02%). This essential oil showed weak antimicrobial activities to most of the tested microbial strains in a concentration of 10%.

Keywords: antimicrobial activity, *Aristolochia balansae* Franch., essential oil, GC-MS (gas chromatography coupled with mass spectrometry), sesquiterpene.

Classification numbers: 1.4, 1.6



Hình 1. Hình thái loài Mộc hương balansae. (A) Nhánh mang lá; (B) Mặt trên lá; (C) Mặt dưới lá; (D) Mặt sau hoa; (E) Mặt bên hoa; (F) Hình thái quả.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết tinh dầu: Lá Mộc hương balansae (900 g) được băm nhỏ và chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước sử dụng bộ chưng cất tinh dầu có hồi lưu Clevenger (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Mỹ) trong thời gian 3 giờ ở áp suất thường theo Dược điển Việt Nam IV [22]. Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C.

Phương pháp phân tích thành phần hóa học tinh dầu: Hòa tan tinh dầu đã được làm khan trong 1 ml *n*-hexan tinh khiết với nồng độ 1%.

GC-MS: Định tính thành phần hóa học tinh dầu được thực hiện bằng thiết bị GC-MS Thermo Scientific Trace 1310 ghép nối với Detector ITQ 900 (Thermo, bẫy ion). Cột phân tích TG-5MS, kích thước 30 m x 0,25 mm x 0,25 mm với khí mang là Heli. Nhiệt độ buồng bơm mẫu là 260°C. Nhiệt độ Detector là 240°C. Chương trình nhiệt độ 60°C (2 phút), tăng 4°C/phút đến 220°C, giữ ở nhiệt độ này trong 10 phút.

Việc xác định các thành phần được thực hiện trên cơ sở của các chỉ số RI (Retention indices), xác định với các đồng đẳng *n*-alkan (C8-C20), trong cùng một điều kiện sắc ký. Đồng thời so sánh với phổ khối lượng tìm kiếm trong thư viện NIST 17, Wiley 8, dữ liệu Adam 2017. Tỷ lệ % các thành phần trong tinh dầu được tính toán dựa trên diện tích peak sắc ký và không sử dụng yếu tố điều chỉnh [23]. Mẫu được phân tích tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật: Các chủng vi sinh vật được sử dụng để thử hoạt tính kháng khuẩn gồm: vi khuẩn gram dương: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Enterococcus faecalis* (ATCC 51229), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213); vi khuẩn gram âm: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Listeria monocytogenes* (ATCC19115); nấm men *Candida albicans* (ATCC 10231).

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được thực hiện dựa trên phương pháp pha loãng nồng độ [24]. Hoạt tính của mẫu thử được thể hiện thông qua phần trăm ức chế vi sinh vật kiểm định được của tinh dầu ở nồng độ 10% sau 18 giờ. Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn và nấm với nồng độ $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

Tiến hành thử: Hút 180 μ l dịch vi khuẩn/nấm men vào đĩa 96 giếng. Sau đó, 20 ml tinh dầu nguyên chất được nhỏ đều xuống các giếng, mỗi nồng độ lặp lại 3 lần. Với giếng đối chứng dương và âm nhỏ lần lượt 20 μ l hỗn hợp kháng sinh (kanamycin và tetracyclin, nồng độ dung dịch gốc là 2,56 mg/ml) và môi trường nuôi cấy. Đo OD₆₀₀ ở thời điểm ngay sau khi nhỏ mẫu thử (t_0). Ủ đĩa 96 giếng 37°C qua đêm (18 giờ) và đo OD₆₀₀ (t_1).

$$\% = [(t_{1dca} - t_{0dca}) - (t_{1mẫu} - t_{0mẫu})] / (t_{1dca} - t_{0dca})$$

trong đó, dca là đối chứng âm.

Mẫu được tiến hành thử nghiệm tại Khoa Khoa học Sự sống, Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thành phần hóa học tinh dầu

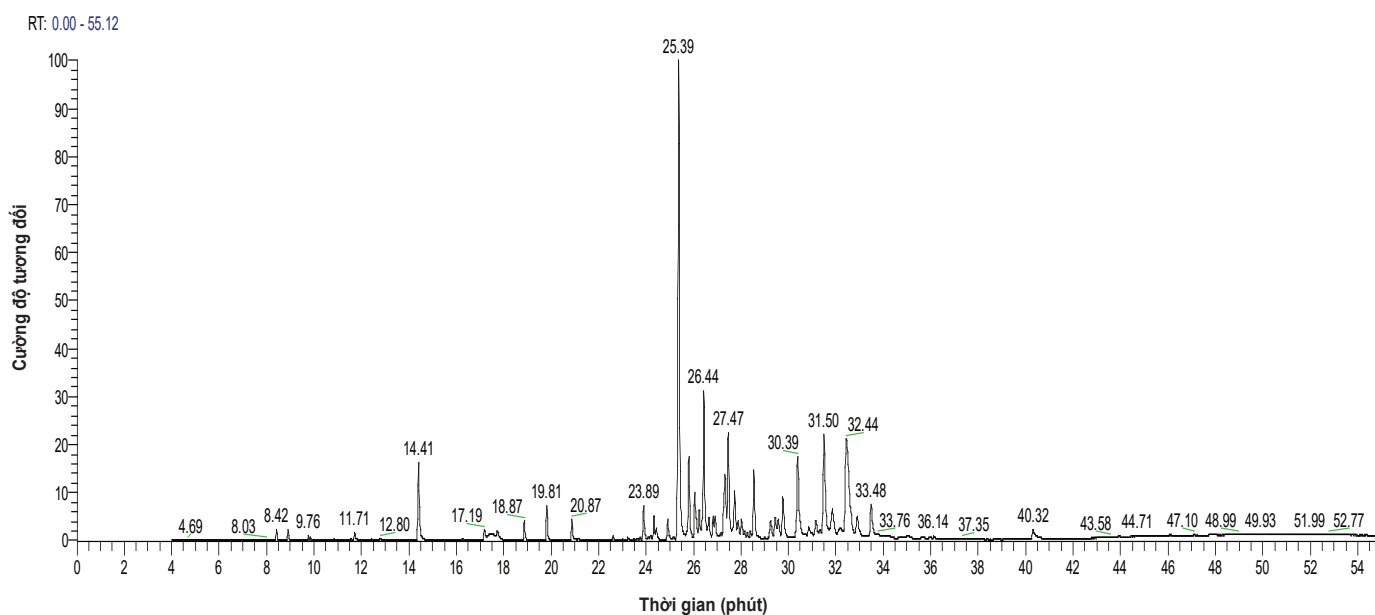
Tinh dầu từ lá loài Mộc hương balansa thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hàm lượng 0,15% trọng lượng tươi. Tinh dầu thu được có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Kết quả phân tích thành phần hóa học được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy, tinh dầu trong lá đã xác định được 63 hợp chất, chiếm 78,58% tổng hàm lượng tinh dầu. Các thành phần chính trong tinh dầu là γ -eudesmol (RT: 31,5, 6,98%), α -humulene (RT: 26,44, 6,22%), β -selinene (RT: 27,47, 4,5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (RT: 27,33, 3,53%), α -trans-bergamotene (RT: 25,39, 3,27%), Limonene

Bảng 1. Thành phần hóa học của tinh dầu từ lá loài Mộc hương balansa.

Thứ tự	Đơn chất	RI ^a	RI ^b	Tỷ lệ %	Thứ tự	Đơn chất	RI ^a	RI ^b	Tỷ lệ %
1	α -pinene	932	937	0,28	36	6,9-guaiadiene	1447	1444	2,28
2	Camphene	946	952	0,53	37	Aristolene	1453	1453	2,16
3	2,4(10)-thujadiene	952	956	0,21	38	α -humulene	1459	1454	6,22
4	β -thujene	972	966	0,13	39	Valerena-4,7(11)-diene	1465	1460	1,10
5	Sabinene	975	974	0,80	40	β -acoradiene	1471	1470	0,76
6	2-carene	991	991	1,02	41	4,5-di-epi-aristolochene	1474	1473	0,88
7	α -phellandrene	1004	1002	0,45	42	Eudesma-4(14),7(11)-diene	1488	1481	3,53
8	α -terpinene	1016	1017	0,97	43	β -selinene	1492	1490	4,50
9	o-cymene	1025	1026	1,55	44	α -selinene	1500	1498	2,28
10	β -phellandrene	1029	1029	0,29	45	β -dihydro agarofuran	1505	1503	0,78
11	trans- β -ocimene	1048	1049	0,40	46	δ -amorphene	1510	1512	0,81
12	γ -terpinene	1059	1059	0,38	47	β -curcumene	1515	1515	0,22
13	Terpinolene	1089	1088	0,92	48	β -cadinene	1519	1518	0,27
14	Benzyl nitrile	1142	1144	0,31	49	7-epi- α -selinene	1523	1522	0,21
15	Camphor	1146	1145	2,82	50	δ -cadinene	1528	1523	2,78
16	Menthone	1156	1152	0,64	51	Europelargone A	1544	1540	1,05
17	Pinocarvone	1164	1164	0,12	52	Cadala-1(10),3,8-triene	1552	1555	0,97
18	p-menthan-3-one	1166	1166	0,22	53	Germacone B	1559	1561	0,98
19	Terpinen-4-ol	1182	1177	0,39	54	Cis-murol-5-en-4- α -ol	1563	1561	0,96
20	γ -terpineol	1196	1199	0,49	55	Guaiol	1607	1600	0,79
21	Limonene	1223	1125	3,02	56	β -himachalene oxide	1617	1616	1,01
22	Isobornyl formate	1229	1232	0,67	57	γ -eudesmol	1629	1632	6,98
23	Pulegone	1242	1237	1,13	58	Selina-3,11-dien-6- α -ol	1642	1644	2,18
24	trans-p-menth-2-en-7-ol	1257	1261	1,13	59	Cadalene	1679	1676	1,35
25	Isobornyl acetate	1287	1286	0,63	60	Cyperotundone	1700	1695	1,75
26	δ -elemene	1340	1338	1,16	61	Cyclocolorone	1759	1760	0,17
27	α -cubebene	1352	1351	0,55	62	β -eudesmol acetate	1792	1792	0,19
28	Ylangene	1370	1372	1,15	63	n-octadecane	1800	1800	0,19
29	Isolatedene	1374	1376	1,11	Tổng số				78,58
30	α -copaene	1378	1376	1,28	Monotepcen hydrocarbon				10,47
31	7-epi-sesquithujene	1392	1391	0,81	Monotepcen chứa oxy				6,45
32	α -gurjunene	1410	1409	0,81	Sesquitepcen hydrocarbon				42,65
33	β -funebrene	1418	1414	0,54	Sesquitepcen chứa oxy				17,02
34	(E)-caryophyllene	1425	1419	2,02	Các hợp chất khác				1,99
35	α -trans-bergamotene	1439	1435	3,27					

RI (Retention index): chỉ số lưu giữ; a: chỉ số trên cột TG-5MS; b: theo tài liệu [23].



Hình 2. Sắc ký đồ tinh dầu lá loài Mộc hương balansae.

(RT: 19,81, 3,02%) và các thành phần khác (RT: thời gian lưu, đơn vị: phút).

Trong tinh dầu lá của loài Mộc hương balansae cũng xác định được thành phần sesquiterpen và sesquiterpen chứa ôxy chiếm ưu thế với tỷ lệ 42,65 và 17,02%, tương ứng tổng hàm lượng tinh dầu, còn các hợp chất monotecpen và monotecpen chứa ôxy chiếm 11,16 và 6,45% tương ứng (hình 2).

3.2. Khả năng kháng vi sinh vật của tinh dầu Mộc hương balansae

Kết quả thử khả năng kháng vi sinh vật của tinh dầu với 7 chủng vi sinh vật kiểm định cho thấy, tinh dầu từ lá của loài Mộc hương balansae có khả năng kháng tương đối với hầu hết các chủng vi sinh vật kiểm định, tuy nhiên hoạt tính ức chế chưa được cao (bảng 2). Từ kết quả nghiên cứu này có thể định hướng quá trình nghiên cứu thử nghiệm tiếp theo đối với các thành phần từ dịch chiết với các loại dung môi khác nhau để có thể ứng dụng trong thực tế.

Bảng 2. Kết quả kháng vi sinh vật kiểm định của tinh dầu Mộc hương balansae.

Mẫu	Gram (+)			Gram (-)			Nấm men
	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecalis</i> ATCC 51229	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
% ức chế sinh trưởng vi sinh vật kiểm định							
Tinh dầu lá (nồng độ 10%)	24,5	10,2	47,2	22,6	37,8	15,2	22,2
Đối chứng dương	91,5	94,2	92,6	91,8	94,5	93,4	89,5

4. Kết luận

Hàm lượng tinh dầu từ lá của loài Mộc hương balansae đạt 0,15% trọng lượng tươi. Thành phần trong tinh dầu chủ yếu là các sesquiterpen và sesquiterpen chứa ôxy, các hợp chất khác chiếm tỷ lệ không đáng kể. Các thành phần chính của tinh dầu là γ -eudesmol (6,98%), α -humulene (6,22%), β -selinene (4,5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (3,53%), α -trans-bergamotene (3,27%), Limonene (3,02%). Khác với nghiên cứu của N.Q. Bình và cs (2021) [20] khi nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu từ lá, thân, rễ của loài *A. petelotii* thu tại Lai Châu cho thấy, Safrole (10%), linalool (6,99%), spathulenol (6,61%) và menthol (5,64%) là các thành phần chính trong tinh dầu lá của loài này. Tinh dầu lá loài Mộc hương balansae có khả năng kháng hầu hết các chủng vi sinh vật kiểm định với nồng độ 10%, tuy nhiên hoạt tính ức chế thấp. Nghiên cứu góp phần bổ sung thành phần hóa học từ tinh dầu lá của loài *A. balansae* và có thể định hướng cho quá trình nghiên cứu thử nghiệm tiếp theo đối với các thành phần từ dịch chiết từ các bộ phận khác nhau của loài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Huber (1993), “Aristolochiaceae”, *The Families and Genera of Vascular Plants*, **2**, pp.129-137, DOI: 10.1007/978-3-662-02899-5_10.
- [2] S.M. Hwang, L.M. Kelly, M.G. Gilbert (2003), “*Aristolochia linnaeus*”, *Flora of China*, **5(1)**, pp.258-269, DOI: 10.11646/phytotaxa.364.1.2.
- [3] S. Wanke, F. Gonzalez, C. Neinhuis (2006), “Systematics of pipevines: Combining morphological and fast-evolving molecular characters to investigate the relationships within subfamily *Aristolochioideae* (*Aristolochiaceae*)”, *International Journal of Plant Sciences*, **167(6)**, pp.1215-1227, DOI: 10.1086/508024.
- [4] P. Duchartre (1854), “Tentamen methodicae divisionis generis *Aristolochia*, additis descriptionibus complurium novarum specierum novique generis holostylis”, *Annales des Sciences Naturelles*, **4A(2)**, pp.29-76.
- [5] O.C. Schmidt (1935), “Aristolochiaceae”, *Naturlichen Pflanzenfamilien*, **2(16B)**, pp.204-242.
- [6] T.V. Do, T.H. Luu, S. Wanke, et al. (2015), “Three new species and three new records of *Aristolochia* subgenus *Siphisia* from Vietnam, including a key to the Asian species”, *Systematic Botany*, **40(3)**, pp.671-691, DOI: 10.1600/036364415X689140.
- [7] M.P. Simmons, H. Ochoterena (2000), “Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses”, *Systematic Biology*, **49(2)**, pp.369-381, DOI: 10.1093/sysbio/49.2.369.
- [8] D.T. Loi (1999), *Vietnamese Medicinal Plants and Herbs*, Medical Publishing House, 416pp (in Vietnamese).
- [9] V.V. Chi (2012), *Vietnamese Dictionary of Medicinal Plants*, Medical Publishing House, 1545pp (in Vietnamese).
- [10] A.G. Pacheco, P.M.D. Oliveira, D.P. Veloso, et al. (2009), “¹³C-NMR data of diterpenes isolated from *Aristolochia* species”, *Molecules*, **14(3)**, pp.1245-1262, DOI: 10.3390/molecules14031245.
- [11] L.S. Mathew, A.G. Mtewab, C.O. Ajayib, et al. (2020), “Ethnopharmacology, pharmacology and phytochemistry of *Aristolochia bracteolata* Lam: A review of an antimalarial plant”, *East Africa Science*, **2(1)**, pp.22-28, DOI: 10.24248/EASci-D-19-00011.
- [12] G.K. Padhy (2021), “A review of *Aristolochia indica*: Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological and toxicological effects”, *Current Traditional Medicine*, **7(3)**, pp.372-386, DOI: 10.2174/2215083806666200831173828.
- [13] A.Y. Idrissi, A. Khouchlaa, A. Bouyahya, et al. (2020), “Phytochemical characterization, in vitro antioxidant, cytotoxic, and antibacterial effects of *Aristolochia longa* L.”, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, **11**, pp.8129-8140.
- [14] X.D. Su, Y. Gao, Y.X. Xiang, et al. (2019), “Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Aristolochia fordiana* Hemsl”, *Records of Natural Products*, **13(4)**, pp.346-354.
- [15] A.J. Akindele, Z. Wani, G. Mahajan, et al. (2015), “Anticancer activity of *Aristolochia ringens* Vahl. (*Aristolochiaceae*)”, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **5(1)**, pp.35-41, DOI: 10.1016/j.jtcm.2014.05.001.
- [16] B. Benarba, A. Pandiella, A. Elmallah (2017), “Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of *Aristolochia longa* L.”, *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, **6(1)**, pp.20-26.
- [17] A.R. Franchet (1898), “*Plantarum sinensium eclogie secunda*”, *Journal De Botanique*, **12**, pp.311-315.
- [18] P.H. Ho (2000), *Vietnamese Herbs*, Tre Publishing House, 1018pp (in Vietnamese).
- [19] N.T. Ban (2003), *List of Vietnamese Plant Species*, Agricultural Publisher, 422pp (in Vietnamese).
- [20] N.Q. Binh, N.T. Tung, N.P. Hanh, et al. (2021), “Chemical composition of essential oils from the leaves, stems and roots of *Aristolochia petelotii* OC Schmidt growing in Vietnam”, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **24(5)**, pp.983-989.
- [21] L.H. Truong, N.H. Cuong, T.H. Dang, et al. (2020), “Cytotoxic constituents from *Isotrema tadungense*”, *Journal of Asian Natural Products Research*, **23(5)**, pp.491-497, DOI: 10.1080/10286020.2020.1739661.
- [22] Ministry of Health (2009), *Vietnam Pharmacopoeia IV*, Medical Publishing House (in Vietnamese), 1492pp.
- [23] R.P. Adams (2017), *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, Allured Publishing, 804pp.
- [24] F. Hadacek, H. Greger (2000), “Testing of antifungal natural products: Methodologies, comparability of results and assay choice”, *Phytochemical Analysis*, **11(3)**, pp.137-147, DOI: 10.1002/(SICI)1099-1565(200005/06)11:3<137::AID-PCA514>3.0.CO;2-I.