

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN CHIẾT XUẤT ACETOGENINS (ACGs) CÓ TRONG MĂNG CẦU XIÊM (*ANNONA MURICATA* (L.) ANNONACEAE)

Huỳnh Thị Mỹ Duyên*, Lê Hoàng Vũ

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: htmduyen@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Măng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.), Annonaceae) đã được nghiên cứu về dược tính từ những năm 1940, là dược liệu đầy tiềm năng được ứng dụng trong các phương pháp điều trị ung thư mới. Hầu hết các nghiên cứu về Măng cầu xiêm đã tập trung vào một nhóm hoạt chất gọi là acetogenin (ACGs). Nhiều nghiên cứu đã khẳng định rằng các nhóm chất này có đặc tính kháng ung thư và độc tính chọn lọc đối với nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau với liều lượng rất thấp. Các acetogenin là chất ức chế mạnh loại enzym chỉ được tìm thấy trong màng tế bào của khối u ung thư, đây là lý do tại sao ACGs chỉ gây độc đến các tế bào ung thư nhưng không có độc tính đối với tế bào khỏe mạnh. Tuy nhiên, việc chiết xuất ACGs có trong Măng cầu xiêm bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như loại dung môi sử dụng, tỷ lệ dung môi và dược liệu, nhiệt độ, thời gian và số lần chiết. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định bộ phận dùng và điều kiện chiết xuất cao Măng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) cho hàm lượng ACGs tối ưu. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Bộ phận dùng của Măng cầu xiêm; Khảo sát các bộ phận dùng lá, hạt, thân và các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất cho hàm lượng ACGs cao nhất, khi tiến hành khảo sát từng yếu tố ảnh hưởng thì điều kiện chiết cho những yếu tố còn lại được cố định. **Kết quả:** Xác định được bộ phận dùng lá cho hàm lượng ACGs cao nhất đồng thời tìm được điều kiện chiết tối ưu: dung môi ethanol 70%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/25, nhiệt độ 50°C, thời gian ngâm chiết 60 phút và chiết một lần. **Kết luận:** Nghiên cứu đã giúp xác định được bộ phận dùng và các thông số chiết xuất cho hàm lượng ACGs tối ưu, từ đó tạo tiền đề cho các nghiên cứu bào chế thành phẩm từ Măng cầu xiêm.

Từ khóa: Măng cầu xiêm, *Annona muricata*, acetogenins, điều kiện chiết xuất.

ABSTRACT

RESEARCH ON THE EXTRACTION CONDITIONS OF ACETOGENINS (ACGs) IN GRAVIOLA (*ANNONA MURICATA* (L.) ANNONACEAE)

Huỳnh Thị Mỹ Duyên*, Lê Hoàng Vũ

Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: *Annona muricata* (soursop or graviola) of Annonaceae has been reported to have a broad range of therapeutic effects since the 1940s. Graviola contains acetogenins (ACGs)

that have anticancer effects and selective toxicity against various types of cancer cells even when applied at low doses. ACGs are also shown to highly inhibit an enzyme only found in cell membranes of cancerous tumors, which is the reason why the compounds are only toxic to cancer cells, not to healthy ones. The extraction of acetogenins, however, is affected by many factors such as types of solvents, the ratio of raw materials and solvents, temperature, time, and the numbers of extractions... **Objectives:** Studying the extraction conditions of graviola (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) to determine the optimal acetogenins extraction process. **Materials and methods:** Testing each factor affecting the extraction process in case of remaining stable of other elements. **Results:** Leaves had the highest content of ACGs; Determining the optimal extraction conditions: solvent (70% of ethanol), the ratio of herbal-solvent (1:25), extraction temperature (50°C), extraction time (60 minutes), and once of extraction. **Conclusion:** The study determined the parts of graviola and the extraction parameters for optimal content of ACGs, which is a premise for researches on preparing products from graviola.

Keywords: graviola, acetogenins, extraction conditions.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) là loài cây ăn quả quen thuộc ở Việt Nam đặc biệt là các tỉnh miền Tây Nam Bộ [1]. Mãng cầu xiêm không những đem lại nhiều lợi ích về mặt kinh tế mà hiện nay còn được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trên thế giới về tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư. Hầu hết các nghiên cứu về Mãng cầu xiêm đều tập trung vào một nhóm hoạt chất gọi là acetogenins (ACGs), khẳng định nhóm chất này có đặc tính kháng ung thư và độc tính chọn lọc đối với nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau [3], [9].

Tuy nhiên, việc chiết xuất acetogenins bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như loại dung môi sử dụng, tỷ lệ dung môi và dược liệu, điều kiện nhiệt độ, thời gian và số lần chiết... các yếu tố trên sẽ làm ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của hoạt chất [2]. Do đó, đề tài nghiên cứu điều kiện chiết xuất acetogenins (ACGs) có trong Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) được thực hiện với mong muốn tìm ra được điều kiện chiết xuất tối ưu nhất cho hàm lượng acetogenins nhiều nhất có trong cao, góp phần định hướng cho các nghiên cứu bào chế thành phẩm có chứa cao Mãng cầu xiêm. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu cụ thể như sau:

1. Xác định bộ phận dùng của Mãng cầu xiêm có hàm lượng acetogenins cao nhất.
2. Nghiên cứu điều kiện chiết xuất ảnh hưởng đến hàm lượng ACGs chiết được.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá, hạt và thân cây Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) được thu hái tại địa bàn thành phố Cần Thơ.

Các mẫu chọn không bị sâu; Lá dày, có màu xanh đậm; Hạt lấy từ quả già chín tự nhiên; Thân cây ≥ 2 tuổi. Lá, hạt, thân sau khi được sấy khô sẽ được xay và rây qua rây có kích thước lỗ rây 3 mm. Dược liệu được rửa sạch, sấy khô ở 50-60 °C, xay thành bột cỡ thô để nghiên cứu điều kiện chiết xuất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định bộ phận chiết có nhiều ACGs nhất

Phương pháp: ngâm kiệt với 3 dung môi có độ phân cực khác nhau: ethanol (EtOH) 70%, ethyl acetat (EtOAc), n-hexan.

Cân chính xác khoảng 10 g bột 3 bộ phận dùng (A) của cây Măng cầu xiêm làm ẩm trong 2 giờ với dung môi chiết (B), sau đó nạp vào bình ngấm kiệt trong 24 giờ. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Quy trình ngấm kiệt: Làm ẩm bột dược liệu với dung môi (B), đậy kín, để yên trong vòng 2 giờ; Nạp dược liệu đã làm ẩm và rây to vào bình; Thêm dung môi ngập dược liệu 2-3 cm, ngâm lạnh 24 giờ; Rút dịch chiết (đồng thời bổ sung dung môi), tốc độ rút dịch chiết từ 1-3 mL/phút; Kết thúc ngấm kiệt khi cặn khô trong 10 mL dịch chiết cuối cùng < 0,02 g.

- Nghiên cứu điều kiện chiết xuất ảnh hưởng đến hàm lượng ACGs chiết được

Phương pháp: chiết nóng. Tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất để tìm ra điều kiện chiết xuất. Cân chính xác khoảng 2 g bột bộ phận (A) của cây Măng cầu xiêm, cho vào bình nón nút mài, thêm dung môi (B) theo tỷ lệ (D), sau đó tiến hành chiết ở nhiệt độ (E), trong (F) phút, chiết liên tục với (G) lần.

Các yếu tố khảo sát quy trình chiết xuất:

- + Dung môi chiết: EtOH 70%, EtOAc, n-hexan.
- + Nồng độ dung môi (nếu dung môi được chọn là ethanol, nếu là dung môi khác bỏ qua bước này): 60%, 65%, 70%, 80%, 90%, 96%.
- + Tỷ lệ dược liệu/dung môi: 1/15, 1/20, 1/25, 1/30, 1/35.
- + Nhiệt độ: t° phòng, 40 $^{\circ}\text{C}$, 50 $^{\circ}\text{C}$, 60 $^{\circ}\text{C}$, 70 $^{\circ}\text{C}$, 80 $^{\circ}\text{C}$.
- + Thời gian chiết: 15 phút, 30 phút, 45 phút, 60 phút, 75 phút, 90 phút.
- + Số lần chiết liên tục: 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần.

Mỗi yếu tố khảo sát lặp lại thí nghiệm 3 lần. Khi tiến hành khảo sát từng yếu tố ảnh hưởng thì điều kiện chiết cho những yếu tố còn lại được cố định, bước đầu dựa vào tài liệu tham khảo để xác định thông số cố định cho từng yếu tố, sau khi xác định được điều kiện chiết xuất nào sẽ áp dụng điều kiện đó vào quy trình để khảo sát yếu tố tiếp theo.

Phương pháp đánh giá: đưa đồng lượng các dịch chiết lên bản mỏng, khai triển với hệ dung môi $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1), phun 3 loại thuốc thử, quan sát màu và kích thước các vết trong khoảng R_f từ 0,2-0,7 có màu tím (tetrazolium blue 0,5%/MeOH-NaOH 5N (1:1) (a)), màu xanh xám (acid phosphomolybdic 5%/MeOH (b)), màu hồng phai nhanh (Kedde (c)) [8]. Dịch chiết nào có số vết nhiều, kích thước và màu sắc đậm hơn thì có nhiều ACGs hơn.

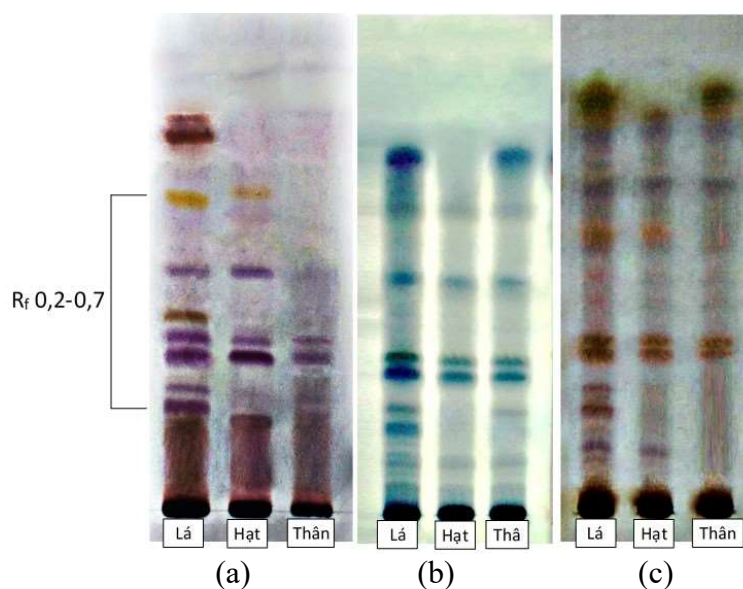
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định bộ phận chiết có nhiều ACGs nhất

Dựa trên kết quả SKLM dịch chiết của 3 bộ phận cây Măng cầu xiêm chiết bằng 3 dung môi ethanol, ethyl acetat, n-hexan, nhận thấy trong khoảng R_f từ 0,2-0,7:

- + Lá: có 5 vết chính R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525.
- + Hạt: có 3 vết chính R_f lần lượt 0,3125; 0,35; 0,525.
- + Thân: có 2 vết chính R_f lần lượt 0,3125; 0,35.

Ở cả ba dung môi là ethanol, ethyl acetat và n-hexan, các vết ACGs ở dịch chiết lá đều nhiều hơn, kích thước và màu sắc đậm hơn hai bộ phận còn lại. Vậy nên bộ phận lá của Măng cầu xiêm chiết được nhiều ACGs nhất trong 3 bộ phận khảo sát và được chọn làm bộ phận dùng để khảo sát dung môi chiết ở bước tiếp theo.

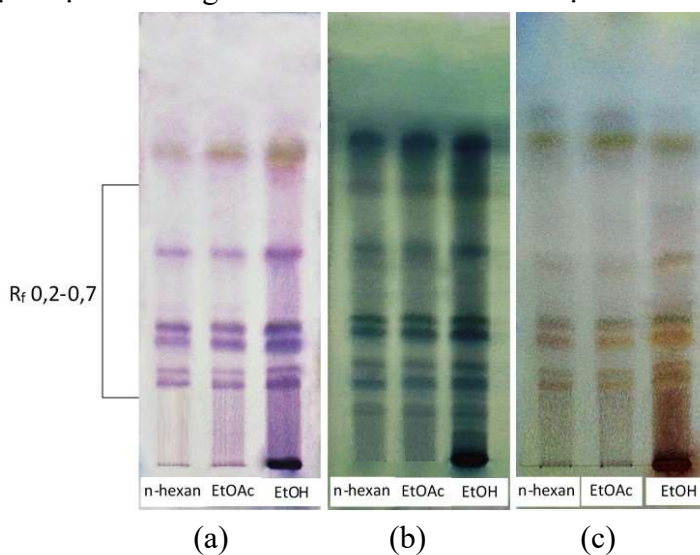


Hình 1. SKLM 3 bộ phận của dịch chiết ethanol 70%

3.2. Nghiên cứu điều kiện chiết xuất ACGs từ lá Mãng cầu xiêm

3.2.1. Ảnh hưởng của dung môi đến chiết xuất ACGs

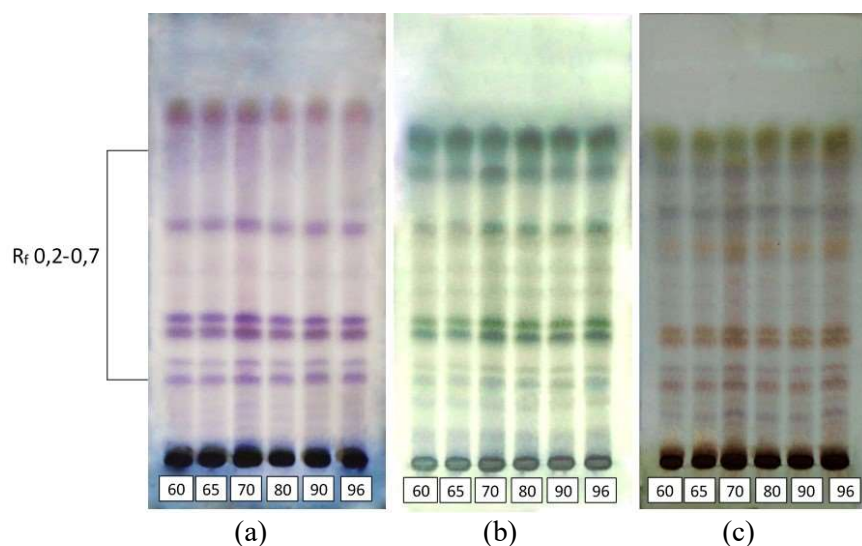
Trong khoảng R_f từ 0,2-0,7 cả 6 dịch chiết đều cho 5 vết chính có R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525. Các vết của dịch chiết ethanol 70% có kích thước và màu sắc đậm hơn 2 dung môi còn lại. Vậy ethanol 70% là dung môi chiết tối ưu ACGs trong 3 loại dung môi khảo sát nên được chọn làm dung môi để khảo sát các điều kiện chiết xuất tiếp theo.



Hình 2. SKLM dịch chiết của 3 dung môi khác nhau

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến chiết xuất ACGs

Trong khoảng R_f từ 0,2-0,7 cả 6 dịch chiết đều cho 5 vết chính có R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525. Các vết của dịch chiết ethanol 70% có kích thước và màu sắc đậm hơn 5 dịch chiết còn lại. Vậy 70% là nồng độ ethanol chiết tối ưu ACGs trong 6 nồng độ khảo sát và được chọn làm nồng độ dung môi để khảo sát các điều kiện chiết xuất tiếp theo.

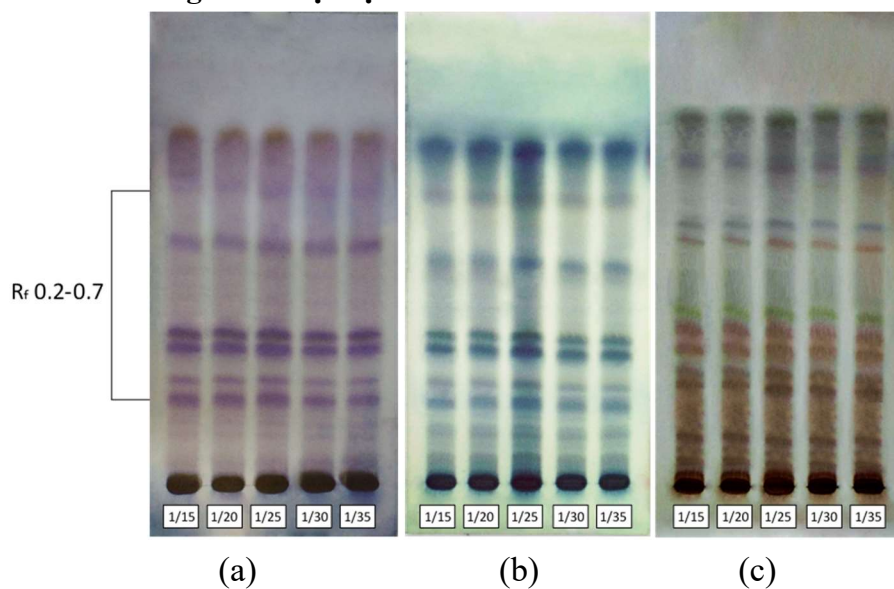


Hình 3. SKLM dịch chiết của ethanol với 6 nồng độ khác nhau

3.2.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu/dung môi đến chiết xuất ACGs

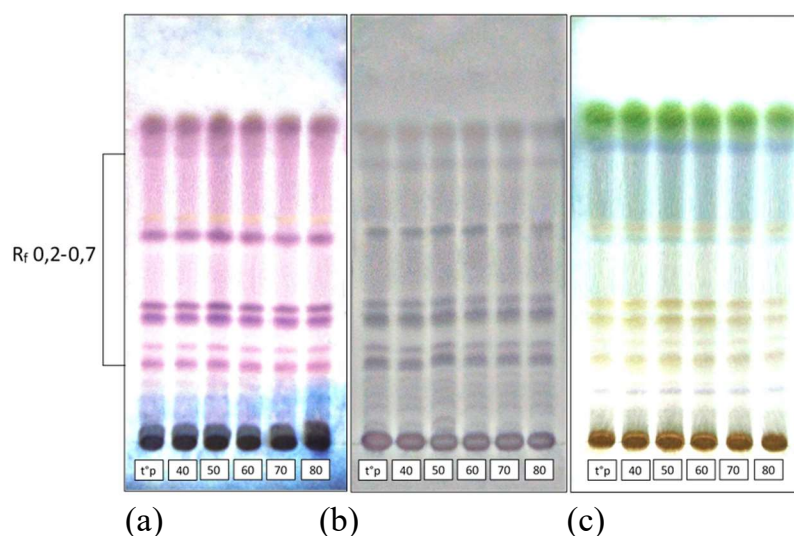
Trong khoảng R_f từ 0,2-0,7 cả 5 dịch chiết đều cho 5 vết chính có R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525. Các vết của dịch chiết được chiết với tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/25 có kích thước và màu sắc đậm hơn 4 dịch chiết còn lại. Vậy với tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/25 là tối ưu để chiết ACGs và được chọn làm tỷ lệ dược liệu/dung môi để khảo sát các điều kiện chiết xuất tiếp theo.

3.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến chiết xuất ACGs



Hình 4. SKLM dịch chiết với 5 tỷ lệ dược liệu/dung môi khác nhau

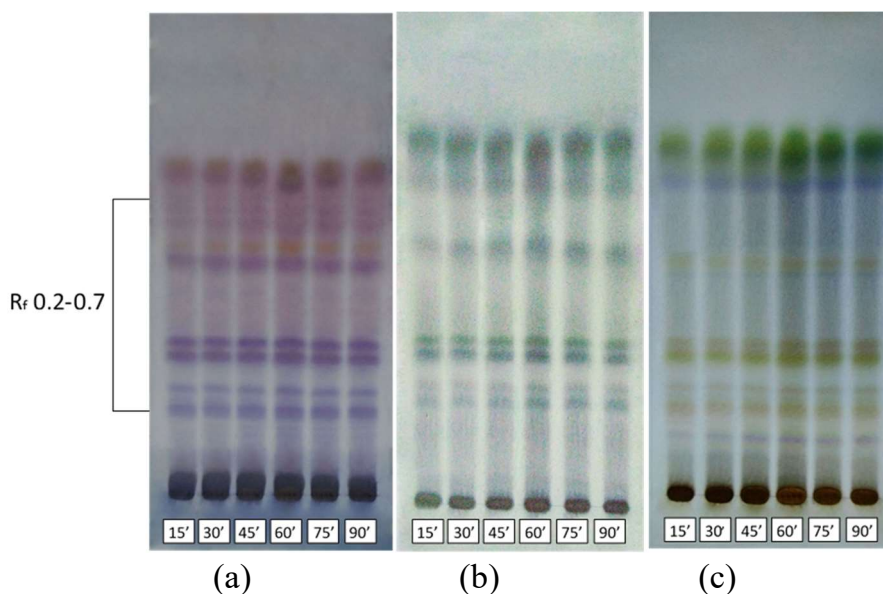
Trong khoảng R_f từ 0,2-0,7 cả 6 dịch chiết đều cho 5 vết chính có R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525. Các vết của dịch chiết được chiết ở 50 °C có kích thước và màu sắc đậm hơn 5 dịch chiết còn lại. Vậy nhiệt độ tối ưu chiết ACGs trong quy trình là 50 °C và được chọn làm nhiệt độ để khảo sát các điều kiện chiết xuất tiếp theo.



Hình 5. SKLM dịch chiết với 6 mức nhiệt độ khác nhau

3.2.5. Ảnh hưởng của thời gian đến chiết xuất ACGs

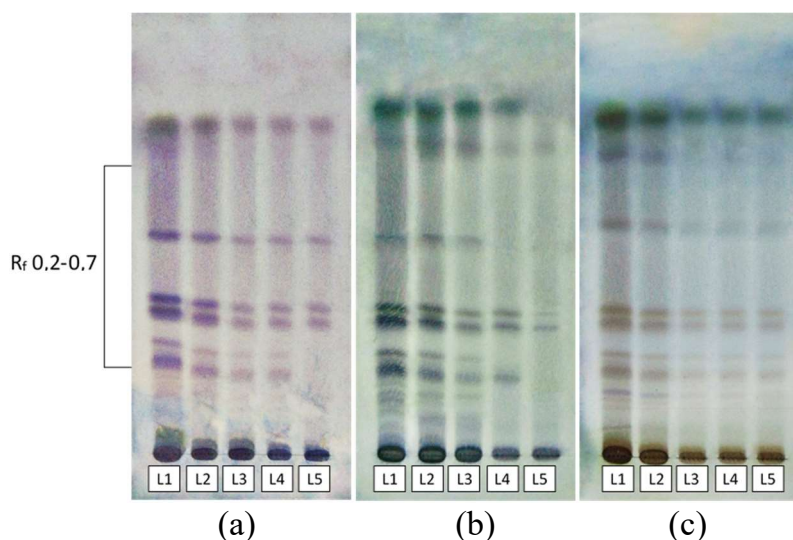
Trong khoảng R_f từ 0,2-0,7 cả 6 dịch chiết đều cho 5 vết chính có R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525. Các vết của dịch chiết được chiết trong 60 phút có kích thước và màu sắc đậm hơn 5 dịch chiết còn lại. Vậy 60 phút là thời gian chiết tối ưu ACGs trong 6 thời gian khảo sát và được chọn làm thời gian để khảo sát các điều kiện chiết xuất tiếp theo.



Hình 6. SKLM dịch chiết trong 6 khoảng thời gian chiết khác nhau

3.2.6. Ảnh hưởng của số lần chiết liên tục

Trong khoảng R_f từ 0,2-0,7; 3 dịch chiết của 3 lần chiết đầu đều cho 5 vết chính có R_f lần lượt 0,2; 0,225; 0,3125; 0,35; 0,525; 2 lần chiết sau cùng chỉ còn 2 vết chính có R_f là 0,3125 và 0,35. Các vết của dịch chiết được chiết lần đầu tiên có kích thước và màu sắc đậm hơn nhiều so với 4 dịch chiết còn lại. Vậy lượng ACGs chiết được ở những lần chiết sau không đáng kể so với dịch chiết chiết lần đầu tiên, do đó để tiết kiệm chi phí chỉ cần chiết một lần.



Hình 7. SKLM dịch chiết ở lần chiết đầu và 4 lần chiết liên tục sau

IV. BÀN LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy lá là bộ phận chiết được nhiều ACGs nhất trong các bộ phận khảo sát, có thể là do sự phân bố của ACGs trong các bộ phận của cây là khác nhau. Lá là cơ quan dinh dưỡng, đảm nhiệm nhiều chức năng quan trọng nên có thể ACGs được tổng hợp và dự trữ tại đây nhiều hơn những bộ phận khác. Trong khi thân thường hóa gỗ đến giai đoạn trưởng thành nhiều cellulose xơ cứng không thích hợp cho ACGs tồn tại, hạt dự trữ nhiều tinh bột và chất béo, có thể có ACGs nhưng không nhiều. Lá dạng phiến mỏng, dễ sấy khô đến độ ẩm quy định, ACGs được bảo quản tốt, lá xốp và khô hơn nên dung môi dễ thấm hoàn toàn và chiết hiệu quả. Các nghiên cứu sau này về ACGs hay về hoạt tính kháng ung thư thì bộ phận thường được ưu tiên cũng là lá Măng cầu xiêm. Yang Chunhua, Gundala Sushma Reddy và cộng sự (2015), nghiên cứu về tác dụng kháng ung thư của loài cây này cũng lựa chọn đối tượng nghiên cứu là lá Măng cầu xiêm vì lá chứa nhiều flavonoid, isoquinolin alkaloid và ACGs [10].

Dung môi chiết là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến hàm lượng chất chiết. Sau khi khảo sát, cho thấy ethanol 70% là dung môi tối ưu để chiết ACGs. Các dung môi thuộc nhóm ancol sẽ thấm tốt hơn lên màng tế bào nên quá trình chiết sẽ thu được lượng lớn các thành phần trong tế bào. Ethanol hòa tan phần lớn các chất chuyển hóa phân cực cùng với các hợp chất phân cực trung bình và kém. Tuy ACGs là nhóm hợp chất phân cực trung bình nhưng theo nghiên cứu của Gu Zhe-Ming và cộng sự (1995), ACGs tinh khiết khá tan trong methanol, ethanol nhưng khó tan trong hexan lạnh và nước [5]. Hơn nữa, ethanol là dung môi rẻ tiền, dễ kiếm, ít độc hại hơn so với các loại dung môi hữu cơ khác. Ethyl acetat-dung môi phân cực trung bình và n hexan-dung môi phân cực kém có khả năng hòa tan tạp phân cực kém như chlorophyll, làm cản trở quá trình chiết. Mặt khác, nồng độ ethanol cũng ảnh hưởng đến quá trình chiết. Hàm lượng ACGs chiết được tăng dần từ độ cồn 60% đến 70%, do ACGs kém tan trong nước nên độ cồn càng thấp, chiết ACGs càng không hiệu quả. Trong khi ở những độ cồn cao hơn, tạp chlorophyll nhiều, chiếm lấy dung môi của ACGs, dung môi tiếp xúc và hòa tan ACGs giảm, ethanol 90%, 96% rất dễ bay hơi, thất thoát dung môi làm giảm hiệu suất nên ACGs có xu hướng giảm khi tăng nồng độ từ 70% đến 96%. Nhiều nghiên cứu trước đây cũng đã sử dụng ethanol 70% vào quy trình chiết. Minari Joseph và

cộng sự (2014), đã ngâm chiết 350 g bột lá với ethanol 70% trong 72h thu được cao và thử hoạt tính kháng ung thư trên mô hình ung thư vú của chuột nhắt trắng cái bằng DBMA [6]. Endrini Susi và cộng sự (2014), thử hoạt tính độc tế bào của cao lá ethanol 70% trên invitro với tế bào ung thư vú MCF-7 [4]. Nghiên cứu của Rachmani Eka Prasasti Nur và cộng sự (2012), ngâm chiết với ethanol thời gian là 24 giờ, lặp lại 3 lần, IC_{50} của dịch chiết ethanol trên tế bào ung thư vú cho kết quả khả quan [7].

Với tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/15 trở lên, dược liệu mới tiếp xúc hoàn toàn với dung môi. ACGs chiết được tăng dần đến tỷ lệ 1/25 nhưng sau đó có xu hướng giảm khi tăng tỷ lệ đến 1/35. Do sau khi nồng độ ACGs trong dung môi và dược liệu gần đạt trạng thái bão hòa và lượng ACGs đã giảm đáng kể nên sự khuếch tán ACGs ra khỏi dược liệu cũng giảm và chậm hơn. Nên lượng dung môi có tăng lên cũng sẽ gây lãng phí dung môi và năng lượng.

Khi nhiệt độ tăng thì lượng chất khuếch tán cũng tăng lên. Hơn nữa, khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung môi giảm sẽ tạo điều kiện cho quá trình chiết xuất xảy ra nhanh và triệt để hơn. Tuy nhiên hàm lượng ACGs chỉ tăng đến 50 °C sau đó có xu hướng giảm là do khi tăng đến khoảng 70-80 °C gần với nhiệt độ sôi của hỗn hợp ethanol và nước nên sẽ làm thất thoát dung môi, nhiệt độ quá cao cũng làm ACGs kém bền hơn, làm giảm ACGs nên 50 °C là nhiệt độ tối ưu được lựa chọn. Mặt khác, thời gian chiết cũng là yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết, khi thời gian chiết kéo dài sẽ giúp dung môi thẩm thấu vào từng tế bào lá Măng cầu xiêm. Nếu thời gian chiết ngắn sẽ không chiết được hết ACGs trong dược liệu, trong khi thời gian quá dài, dịch chiết sẽ lẫn nhiều tạp do lúc này ACGs không còn nhiều và đến lượt các tạp phân tử lớn khuếch tán vào dung môi. Vậy nên 60 phút là khoảng thời gian hợp lý chiết hiệu quả ACGs.

Khi khảo sát trên nhiều lần chiết liên tục có thể thấy ở lần chiết đầu tiên, ACGs còn nhiều, chênh lệch nồng độ ACGs giữa dung môi và dược liệu lớn, tốc độ chiết cao nên trong cùng khoảng thời gian, lượng ACGs chiết được nhiều hơn đáng kể so với những lần chiết sau. Ở những lần chiết sau, ACGs còn rất ít, ACGs khuếch tán vào dung môi chậm, tuy còn ít ACGs nhưng vẫn không chiết hết được do gần đạt trạng thái bão hòa. Do đó, để đạt hiệu quả chiết đồng thời giảm chi phí, quy trình chiết với các thông số trên được thực hiện chiết một lần.

V. KẾT LUẬN

Xác định được lá Măng cầu xiêm có hàm lượng acetogenins cao nhất đồng tìm được điều kiện chiết ACGs cho hàm lượng cao với các thông số cô định được đề xuất: dung môi ethanol 70%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/25, nhiệt độ 50 °C, thời gian ngâm chiết 60 phút và chiết một lần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2003), *Cây Cỏ Việt Nam*, NXB Trẻ, TP. Hồ Chí Minh, tr. 242-244.
2. Trần Hùng (2015), *Giáo trình phương pháp nghiên cứu dược liệu*, Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh, tr. 2-5.
3. Alali Feras Q., Liu Xiao Xi, McLaughlin Jerry L. (1999), Annonaceous Acetogenins: Recent Progress, *Journal of Natural Products*, 62 (3), pp. 504-540.
4. Endrini Susi *et al.* (2014), *Annona muricata* leaves have strongest cytotoxic activity against breast cancer cells, *Universa Medicina*, 33 (3), pp. 179-184.
5. Gu Zhe-Ming, Zhao Geng-Xian (1995), Annonaceous acetogenins: Potent mitochondrial inhibitors with diverse applications, *Recent Advances in Phytochemistry*, 29, pp. 249-310.
6. Minari Joseph *et al.* (2014), Chemopreventive effect of *Annona muricata* on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice, *Egyptian Journal of*

- Medical Human Genetics*, 15 (4), pp. 327-334.
7. Rachmani Eka Prasasti Nur, Suhesti Tuti Sri (2012), The breast of anticancer from leaf extract of *Annona muricata* againsts cell line in T47D, *International Journal of Applied Science and Technology*, 2 (1), pp. 157-164.
 8. Rupprecht J. Kent *et al.* (1990), Annonaceous Acetogenins: A review, *Journal of Natural Products*, 53 (2), pp. 237-278.
 9. Smith Robert E., Tran Kevin and Richards Kristy M. (2014), Bioactive Annonaceous Acetogenins, *Studies in Natural Products Chemistry*, 41, pp. 95-115.
 10. Yang Chunhua, Gundala Sushma Reddy *et al.* (2015), Synergistic Interactions Among Flavonoids and Acetogenins In Graviola (*Annona muricata*) Leaves Confer Protection Against Prostate Cancer, *Carcinogenesis Advance Access*, 36 (6), pp. 656-665.

(Ngày nhận bài: 01/4/2021 – Ngày duyệt đăng: 23/7/2021)
