

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA TRÊN MỘT SỐ
MÔ HÌNH *IN VITRO* CỦA DƯỢC LIỆU BÌM BỊP *CLINACANTHUS*
NUTANS (BURM. F.) LINDAU, ACANTHACEAE

Nguyễn Thị Trang Đài*, Cao Nguyễn Ngọc Ân, Lê Thị Thanh Yến
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ
*Email: ntttai@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Dược liệu Bìm bịp từ lâu được sử dụng trong dân gian để làm thuốc kháng oxy hóa, kháng viêm, thấp khớp, bệnh gút, giảm đau. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định hoạt tính kháng oxy hóa các cao toàn phần và cao phân đoạn của Bìm bịp trên một số mô hình *in vitro* mô hình DPPH, thử nghiệm FRAP. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Dược liệu Bìm bịp được thu hái tại Núi Cấm – An Giang, tiến hành chiết xuất bộ phận dùng bằng cồn 96%, chiết phân bố lỏng-lỏng cao cồn với các dung môi có độ phân cực tăng dần dichloromethan, ethyl acetat, và nước thu được các cao phân đoạn, sắc ký cột chân không cao phân đoạn thu được phân đoạn đơn giản. Thử tác dụng kháng oxy hóa trên các cao bộ phận dùng và các cao phân đoạn trên mô hình thử khả năng loại gốc tự do DPPH và mô hình khử sắt FRAP. **Kết quả:** Thử tác dụng kháng oxy hóa các bộ phận dùng của dược liệu Bìm bịp cho thấy cao thân có tác dụng mạnh nhất. Chiết phân bố lỏng-lỏng cao thân với các dung môi khác nhau thu được các cao phân đoạn dichloromethan, ethyl acetat và nước, kết quả thử kháng oxy hóa cao ethyl acetat có tác dụng mạnh, sắc ký cột chân không cao ethyl acetat thu được 4 phân đoạn, thử tác dụng kháng oxy hóa trên 4 phân đoạn. **Kết luận:** Từ kết quả nghiên cứu đã cung cấp dữ liệu về hoạt tính kháng oxy hóa của Bìm bịp, góp phần quan trọng cho cơ sở lựa chọn sử dụng dược liệu này một cách hợp lý, an toàn và phát triển nghiên cứu thành phần hóa học của Bìm bịp theo định hướng tác dụng sinh học.

Từ khóa: Bìm bịp, mô hình DPPH, mô hình FRAP, kháng oxy hóa.

ABSTRACT

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *CLINACANTHUS*
NUTANS (BURM. F.) LINDAU, ACANTHACEAE BY USING
IN VITRO MODELS

Nguyen Thi Trang Dai*, Cao Nguyen Ngoc An, Le Thi Thanh Yen
Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau is used worldwide for the treatment of antioxidant, antiinflammation, rheumatism, gout, and pain. **Objectives:** Identification anti-oxidant effects of total extract and fractions of *Clinacanthus nutans* *in vitro* DPPH and FRAP. **Material and methods:** *Clinacanthus nutans* was harvested at Nui Cam, An Giang province. Roots, stems, and

leaves were extracted by 96% ethanol. Liquid-liquid extraction of ethanol extract was performed by using dichloromethane, ethyl acetate, and water which are arranged in order of increasing polarity. Fraction extracts were employed on vacuum liquid chromatography system in order to collect more simple fractions. The evaluation of antioxidant activities *in vitro* of extracts from different parts of *Clinacanthus nutans* was conducted by the inhibition of DPPH and FRAP inhibitory action tests. **Results:** The extract from the stem of *Clinacanthus nutans* showed the most potent antioxidant action out of the extracts from another parts. Similarly, the strongest antioxidant effect was observed in ethyl acetate extract compared to extracts from other solvents. **Conclusions:** The research results have provided data on the antioxidant activity of Bumblebee, making an important contribution to the establishment to choose to use this medicinal plant in a reasonable and safe manner and to develop research on chemical composition. of *Clinacanthus nutans* in the direction of biological effects.

Keywords: *Clinacanthus nutans*, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ferric reducing, antioxidant activity

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Bìm bịp (*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau, Acanthaceae), từ lâu đã được xem là vị thuốc cổ truyền ở Thái Lan, Indonesia, Malaysia. Theo Y học cổ truyền, Bìm bịp có tác dụng chữa trị bệnh gút, giảm đau, hạ sốt, kháng viêm, điều kinh. Người dân thường dùng lá tươi giã nhuyễn chữa sưng đau, cầm máu, bong gân, gãy xương kín, [11].... Ngoài ra dược liệu Bìm bịp còn được dùng trong một số bài thuốc trị thấp khớp, thoái hóa cột sống, có tác dụng kháng viêm. Ở Trung Quốc, toàn bộ thân, lá dược liệu Bìm bịp được sử dụng theo cách khác nhau để điều trị tình trạng viêm như tụ máu, đẹn dập, thương tích căng, bong gân và bệnh thấp khớp. Ngoài ra còn dùng để trị chứng thiếu máu, vàng da và đắp cho mau lành xương bị gãy. Y học dân gian của các nước đã ghi nhận, Cây Bìm bịp có tác dụng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, độc tế bào, trị côn trùng cắn, sốt, ban da, lỵ, đái tháo đường [11], [12], [13]. Tại Việt Nam, chưa có những báo cáo nghiên cứu sâu về tác dụng sinh học và hóa học từ cây bìm bịp. Trong bài báo này báo cáo kết quả nghiên cứu hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* từ cây Bìm bịp (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) mọc tại Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Dược liệu

Loài bìm bịp nghiên cứu được thu hái ở núi Cấm, An Giang tháng 9/2020. Mẫu nghiên cứu được tiến hành giải trình tự gen sử dụng cặp mồi RBCL F (5' ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3') và RBCL R (5'-GTAAAATCAAGTCCACCRCG-3') khuếch đại vùng gen RBCL, thực hiện tại Bộ môn di truyền và chọn giống, khoa Nông nghiệp - Trường Đại học Cần Thơ, xác định mẫu có tên khoa học là *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau, họ Ô rô (Acanthaceae), mang số hiệu Bb0920 được lưu tại Phòng Tiêu bản thực vật, Bộ môn Dược liệu, khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ [2].

Rễ, thân và lá được cắt thành đoạn nhỏ, phơi khô và xay thành bột, bảo quản nơi khô mát.

- Hóa chất dùng thử nghiệm

Dung môi: Aceton, benzen, dichloromethan, ethanol, ethyl acetat, n- hexan, methanol, ... do Việt Nam, Trung Quốc sản xuất. Ethyl acetat, dichloromethan được làm khan trước khi sử dụng.

Thuốc thử: Thuốc thử VS là hỗn hợp của dung dịch vanillin 1% trong cồn 96% và dung dịch H₂SO₄ 5% trong cồn tuyệt đối được phối hợp với tỉ lệ 1:1, thuốc thử FeCl₃ 5% trong cồn 96%, TT DPPH và TT TPTZ (Sigma Aldrich)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Bố trí thí nghiệm

+ Bước 1: Chiết xuất cao toàn phần từ các bộ phận dùng rễ, thân, lá của Bìm bịp.

+ Bước 2: Thử hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro*, chọn bộ phận dùng có tính kháng oxy hóa mạnh nhất.

+ Bước 3: Chiết phân bố cao toàn phần của bộ phận dùng có tác dụng kháng oxy hóa mạnh với hệ dung môi có độ phân cực tăng dần (dichloromethan, ethyl acetat, và nước) thành các cao phân đoạn.

+ Bước 4: Thử hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* trên các cao phân đoạn, chọn cao phân đoạn có tính kháng oxy hóa mạnh nhất.

+ Bước 5: Tách cao phân đoạn có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh bằng sắc ký cột chân không thành các phân đoạn và thử hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* trên các phân đoạn, chọn phân đoạn có tính kháng oxy hóa mạnh nhất.

- Phương pháp chiết xuất

Dược liệu được tách riêng bộ phận dùng thành rễ, thân, lá và được chiết nóng ở nhiệt độ 60°C với cồn 96%. Cao cồn toàn phần được chiết phân bố lỏng-lỏng theo tỉ lệ 1:1 với các dung môi có độ phân cực tăng dần như dichloromethan, ethyl acetat, nước và cô thu hồi dung môi thu được các cao phân đoạn dichloromethan, ethyl acetat và nước. Thử hoạt tính kháng oxy hóa tìm ra cao phân đoạn tiềm năng, tiến hành sắc ký cột (SKC) chân không để tách thành những phân đoạn đơn giản hơn. Thử hoạt tính kháng oxy hóa trên các phân đoạn.

- Phương pháp thử hoạt tính kháng oxy hóa

Thử nghiệm đánh giá khả năng loại gốc tự do DPPH [5], [6]

Thực hiện theo cách sau:

Sắc ký lớp mỏng:

Điều kiện sắc ký lớp mỏng: Bản mỏng tráng sẵn silica gel F₂₅₄, mẫu chấm 0,1 mg cao hòa trong 1 mL MeOH, hệ dung môi khai triển: EtOAc- MeOH-H₂O-HCOOH (20:3,4:2,6:0,3), phát hiện: UV_{254nm}, UV_{365nm}, thuốc thử DPPH 0,2%/MeOH và FeCl₃.

Các dược liệu hay phân đoạn được đánh giá sơ bộ có hoạt tính kháng oxy hóa, khi các vết trên bản mỏng làm cho DPPH chuyển từ màu tím sang vàng, sau khi nhúng thuốc thử DPPH 0,2%/MeOH.

Thử nghiệm FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) [7], [8]

Pha dung dịch thử

Mẫu thử là các cao chiết pha trong MeOH.

Nồng độ khảo sát khác nhau: 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL. Khảo sát nồng độ thấp hơn đối với bộ phận hay phân đoạn có tác dụng mạnh.

Chuẩn bị

Dung dịch đệm acetate 0,3 M, pH = 3,6: Hòa tan 3,1 g natri acetat ngâm nước với 16 mL dung dịch acid acetic băng, sau đó thêm nước cất 2 lần vừa đủ 1 lít, bảo quản 4°C (1).

Dung dịch TPTZ 10 mM: Hòa tan 0,156 g TPTZ với 2 mL acid hydroclorid 1 M, sau đó thêm nước cất 2 lần vừa đủ 50 mL (2).

Dung dịch Fe (III) clorid 20 mM: Hòa 0,54 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ với nước cất 2 lần, vừa đủ 100 mL (3).

Thuốc thử FRAP: là hỗn hợp (1), (2), (3) theo tỷ lệ 10:1:1.

Phản ứng được thực hiện trên bếp cách thủy ở 37°C , sau 30 phút phản ứng ổn định, tiến hành đo quang ở 593 nm.

Tính toán kết quả

Sự thay đổi OD giữa ống trắng và ống thử $\Delta\text{OD} = \text{OD}_{\text{thử}} - \text{OD}_{\text{trắng}}$

Xây dựng đường chuẩn Fe (II)-TPTZ

Pha dung dịch chuẩn $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ở các nồng độ khác nhau: 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Cho phản ứng với thuốc thử TPTZ, ở nhiệt độ 37°C , sau 30 phút đo quang ở 593 nm.

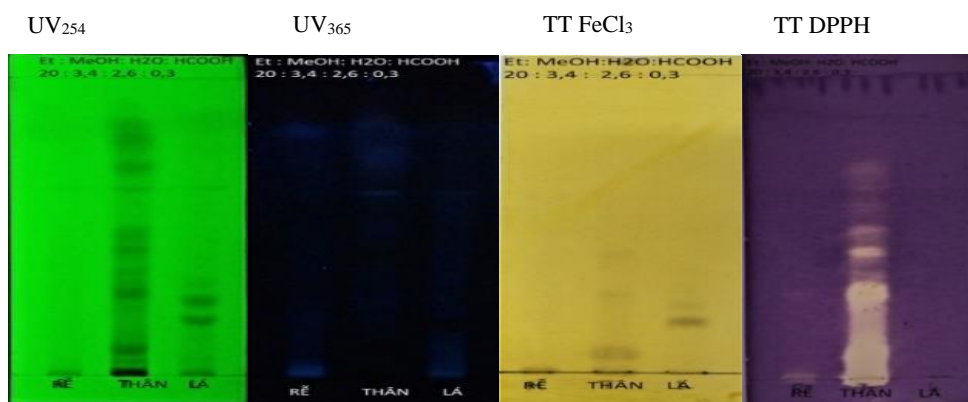
Từ ΔOD và đường chuẩn của phức Fe^{2+} -TPTZ, tính ra khả năng khử của dung dịch thử.

Đường chuẩn là phương trình hồi quy $y = ax + b$, giữa OD và nồng độ Fe^{2+} -TPTZ, thế $y = \Delta\text{OD}$, tính ra x là số nmol Fe^{2+} -TPTZ/mg, tương đương HCTO của dung dịch thử.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thử hoạt tính kháng oxy hóa trên mô hình DPPH

Sắc ký lớp mỏng

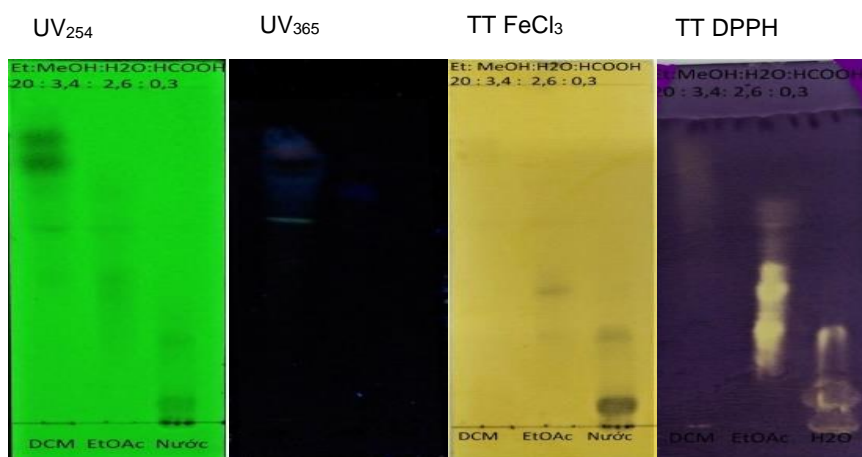


Hình 1. Khảo sát HCTO các bộ phận rễ, thân, lá của *C. nutans*

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của cao toàn phần rễ, thân, lá trên sắc ký lớp mỏng với thuốc thử FeCl_3 và thuốc thử DPPH 0,2%/MeOH.

Nhận xét: Cao toàn phần thân có tác dụng kháng oxy hóa mạnh hơn cao rễ và lá.

Tiến hành khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa trên SKLM với TT FeCl_3 và TT DPPH 0,2%/MeOH



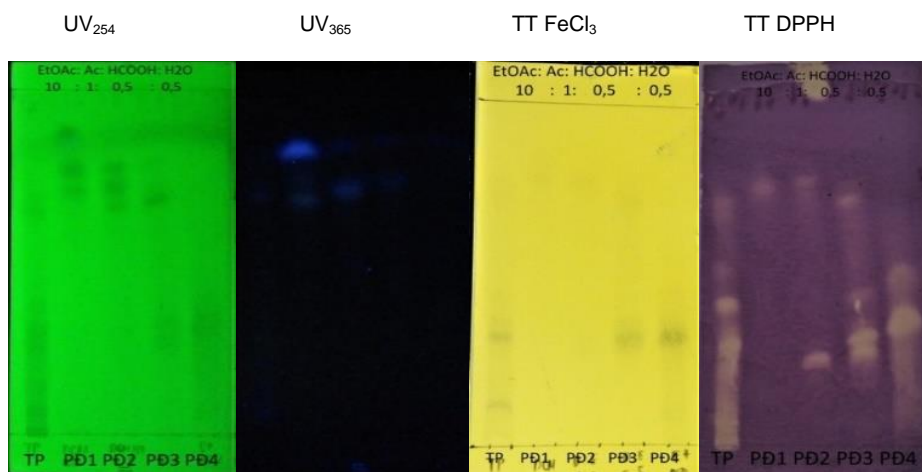
Hình 2. Khảo sát HTCO các phân đoạn từ cao toàn phần của thân trên SKLM

Nhận xét: Dựa vào sắc ký đồ của các cao phân đoạn từ cao toàn phần nhận thấy cao EtOAc có nhiều vết kháng oxy hóa rõ rệt và có cường độ màu đậm nhất so với cao DCM và nước. sơ bộ kết luận cao EtOAc có hoạt tính kháng oxy hóa cao nhất.

Sau khi khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các phân đoạn từ cao toàn phần của thân Bìm bịp, phân đoạn EtOAc cho tác dụng mạnh nhất trên SKLM. Vì vậy chọn cao EtOAc để tiến hành sắc ký cột chân không.

Thăm dò hệ dung môi cho khai triển SKC: Tiến hành thăm dò hệ dung môi cho khai triển SKC của cao EtOAc bằng phương pháp SKLM. Dung môi được lựa chọn dựa vào R_f và khả năng tách thích hợp. Kết quả thăm dò chọn hệ DCM-EtOAc (5:5) vừa có khả năng tách tốt vừa có R_f thích hợp nên được chọn làm hệ dung môi khai triển và theo dõi SKC của cao EtOAc. Sau khi tiến hành sắc ký cột chân không cho cao EtOAc, thu được 4 phân đoạn (PD1- PD4).

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa trên các phân đoạn từ cao EtOAc



Hình 3. Khảo sát HTCO các phân đoạn từ cao EtOAc trên SKLM

Kết quả sơ bộ trên SKLM: Trong các phân đoạn thu được, nhận thấy ở PD3 và PD4 có tác dụng kháng oxy hóa mạnh, cho nhiều vết màu vàng với cường độ màu đậm. Trong

đó các vết ở PĐ4 cho cường độ màu đậm hơn. Ở PĐ1 và PĐ2 các vết có làm đổi màu TT DPPH 0,2%/MeOH tuy nhiên cường độ màu không cao. Vì vậy, kết quả sơ bộ cho thấy ở PĐ4 cho tác dụng kháng oxy hóa cao nhất.

3.2. Thử hoạt tính kháng oxy hóa trên mô hình FRAP

Xây dựng đường chuẩn

Đường chuẩn có phương trình: $y = 0,0026x + 0,0701$ với $R^2 = 0,9997$

Bảng 1. HTCO của cao toàn phần bằng thử nghiệm FRAP

STT	Nồng độ (µg/mL)	HTCO (nmol Fe ²⁺ - TPTZ/mg)		
		Rễ	Thân	Lá
1	25	-	12,64 ± 0,45	-
2	50	-	48,54 ± 0,8	-
3	100	-	110,02 ± 0,93	-
4	150	-	180,88 ± 0,72	-
5	250	31,86 ± 0,48	305,1282 ± 1,27	-
6	500	87,86 ± 0,71	+	12,91 ± 0,22
7	750	146,28 ± 0,77	+	35,03 ± 0,48
8	1000	203,66 ± 0,644	+	52,02 ± 0,23

(+) có HTCO nhưng không thực hiện (-) không có HTCO

p < 0,05: khác nhau có ý nghĩa thống kê trên thử nghiệm FRAP

Nhận xét: Trong thử nghiệm FRAP, các chất có tác dụng kháng oxy hóa sẽ chuyển các phân tử Fe³⁺- TPTZ thành Fe²⁺- TPTZ, do đó HTCO được đánh giá thông qua số nmol Fe²⁺- TPTZ/mg sau phản ứng. Ở nồng độ 250 µg/mL của cao toàn phần từ thân số nmol Fe²⁺- TPTZ/mg sau phản ứng là (305,1282 ± 1,27) nmol Fe²⁺- TPTZ/mg lớn hơn số nmol Fe²⁺- TPTZ/mg tạo thành từ cao toàn phần từ rễ (203,6667 ± 0,644 nmol Fe²⁺- TPTZ/mg) và lá (52,0256 ± 0,2318 nmol Fe²⁺- TPTZ/mg) ở nồng độ 1000 µg/mL. Do đó, cao toàn phần từ thân có hoạt tính kháng oxy hóa cao nhất.

Bảng 2. HTCO của cao các phân đoạn trên thử nghiệm FRAP

STT	Nồng độ (µg/mL)	HTCO (nmol Fe ²⁺ - TPTZ/mg)		
		Cao DCM	Cao EtOAc	Cao nước
1	1000	369,4743 ± 0,3271	+	943,6667 ± 2,0302
2	750	283,2949 ± 1,5415	+	697,2179 ± 1,2942
3	500	184,0769 ± 0,3077	+	485,4231 ± 0,4293
4	250	11,7692 ± 0,2035	573,1923 ± 1,1997	99,7436 ± 0,2887
5	150	+	297,7179 ± 0,4747	+
6	100	11,7692 ± 0,2035	202,1795 ± 0,3085	99,7436 ± 0,2887
7	50	-	103,6667 ± 0,0588	-
8	25	-	35,9615 ± 0,4016	-

(+) Có HTCO nhưng không thực hiện (-) Không thực hiện

p < 0,05 khác nhau có ý nghĩa thống kê của thử nghiệm FRAP

Nhận xét: Kết quả các mẫu ở cùng nồng độ thì mẫu cao EtOAc có hoạt tính kháng oxy hóa cao nhất.

Bảng 3. HTCO của các phân đoạn từ cao EtOAc bằng thử nghiệm FRAP

STT	Nồng độ (µg/mL)	HTCO (nmol Fe ²⁺ - TPTZ/mg)			
		PĐ1	PĐ2	PĐ3	PĐ 4
1	1000	457,7436 ± 2,0105	1386,2436 ± 2,6814	1402,5897 ± 1,8354	1446,3842 ± 2,4231
2	750	283,3333 ± 0,8857	1105,1154 ± 2,2887	1126,5769 ± 1,5365	1150,8846 ± 0,24019
3	500	210,0128 ± 1,0207	727,7949 ± 2,0863	785,7692 ± 2,9503	798,2179 ± 1,4495
4	250	156,9877 ± 0,4621	373,2564 ± 0,5471	377,7821 ± 2,0031	425,3462 ± 0,9452
5	100	26,8590 ± 0,1236	148,3077 ± 0,6296	148,8718 ± 0,1601	196,7564 ± 0,3469

Nhận xét: Từ bảng kết quả cho thấy cao PĐ2, PĐ3, PĐ4 có tác dụng kháng oxy hóa cao, gần như tương đương nhau. Trong đó cao PĐ4 cho tác dụng kháng oxy hóa cao nhất.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt động thu dọn gốc tự do DPPH dựa trên nồng độ IC₅₀ của thân là 102,67 µg/mL của rễ là 913,59 µg/mL cho thấy hiệu lực kháng oxy hóa của thân cao hơn rất nhiều so với rễ, trong khi đó IC₅₀ của lá không xác định được ở điều kiện hiện tại. Cao toàn phần thân *C.nutans* được chiết với các dung môi có độ phân cực tăng dần DCM, EtOAc và nước. Kết quả khảo sát cho thấy phân đoạn EtOAc cho kết quả dương tính rõ nhất trên bản mỏng và có IC₅₀ thấp nhất (IC₅₀ = 73,19 µg/mL) trong khi đó IC₅₀ của cao DCM là 675,51 µg/mL và IC₅₀ của cao nước 201,8 µg/mL nên được chọn để tiếp tục phân lập trên sắc ký cột. Điều này phù hợp vì các polyphenol thường tan tốt trong dung môi phân cực trung bình. Đồng thời trong nghiên cứu của Md. Ariful Alam [9] nghiên cứu hoạt tính kháng oxy hóa trên các cao phân đoạn ethyl acetat, butanol, hexan, methanol và nước của *C. nutans* thì cao ethyl acetat ức chế mạnh nhất gốc tự do DPPH 79.98 ± 0.31% (IC₅₀ = 269,1 µg/mL) so với các cao còn lại và có hàm lượng các hợp chất flavonoid và phenolic cao nhất. Kết quả thực nghiệm trong thử nghiệm DPPH thu được cao hơn so với nghiên cứu trước đây của Md. Ariful Alam [10]. Nguyên nhân có thể là do vùng địa lý khác nhau, thời điểm thu hái, bảo quản có ảnh hưởng đến lượng thành phần hóa học trong thực vật.

Hai mô hình kháng oxy hóa *in vitro* đều cho kết quả tương tự nhau, chứng tỏ kết quả nghiên cứu cũng có độ chính xác và tính tin cậy cao

Phương pháp FRAP và DPPH có ưu điểm đơn giản, dễ thực hiện, có khả năng lặp lại cao, thời gian phản ứng không kéo dài, do đó được dùng để sàng lọc các phân đoạn có tác dụng kháng oxy hóa cho các nội dung nghiên cứu tiếp theo. Điều này phù hợp với thực tế nghiên cứu hiện nay, mô hình DPPH được sử dụng rất phổ biến trong các nghiên cứu sàng lọc các chất kháng oxy hóa, loại gốc tự do từ dược liệu.

V. KẾT LUẬN

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa cao chiết các bộ phận dùng của dược liệu trên mô hình DPPH và mô hình khử sắt (FRAP). Kết quả từ 2 mô hình hoàn toàn trùng khớp nhau. Xác định được cao còn toàn phần 96% của thân có tác dụng kháng oxy hóa mạnh hơn rễ và

lá, cao phân đoạn ethyl acetat có tác dụng kháng oxy hóa mạnh hơn cao dichloromethan và cao nước, phân đoạn 4 của cao ethyl acetat có tác dụng kháng oxy hóa mạnh hơn 3 phân đoạn còn lại. Kết quả cũng đã cung cấp dữ liệu về hoạt tính kháng oxy hóa của Bìm bịp, góp phần quan trọng cho cơ sở lựa chọn sử dụng dược liệu này một cách hợp lý, an toàn và phát triển nghiên cứu thành phần hóa học của Bìm bịp theo định hướng tác dụng sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Đàm (2015), Đánh giá về lượng các kết quả nghiên cứu Y Dược Sinh học, NXB Y học, Hà Nội, tr. 474-505.
2. Nguyễn Thị Trang Đài, Huỳnh Ngọc Thụy, Huỳnh Kỳ (2017), “Nghiên cứu thực vật học và đa dạng di truyền của *Clinacanthus nutans* tại Việt Nam” *Tạp chí Dược học*, 495 (57), tr.40-45.
3. Nguyễn Thị Trang Đài, Mã Chí Thành, Huỳnh Ngọc Thụy (2017), “Bốn hợp chất isoflavonoid phân lập từ thân cây Bìm bịp (*Clinacanthus nutans* (Brum.f.) Lindau. Acanthaceae)” *Tạp chí Dược học*, 496 (57), tr. 40-43.
4. Nguyễn Thị Trang Đài, Huỳnh Ngọc Thụy (2017), “Bốn hợp chất triterpenoid phân lập từ thân cây bìm bịp *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau, Acanthaceae”, *Tạp chí Dược học*, 498(57), tr. 16-20.
5. Huỳnh Ngọc Thụy, Nguyễn Thị Trang Đài (2017), “Bốn hợp chất isoflavonoid phân lập từ thân cây Bìm bịp (*Clinacanthus nutans* (Brum.f.) Lindau. Acanthaceae)” *Tạp chí Dược học*, 498 (57), tr. 69-72.
6. Ashwell R.N, Mack M. And Johannes V. S. (2010) “Natural Antioxidants Fascinating or Mythical Biomolecules, *Molecules* Vol 15, pp 6905- 6930.
7. A. V. Badarinath, K. Mallikarjuna Rao, C. Madhu Sudhana Chetty, S. Ramkanth, T.V.S Rajan, et al. (2010), “A Review on *In-vitro* Antioxidant Methods Comparisons, Corelations and Considerations”, *International Journal of Pharm Tech Research*, Vol. 2, pp. 1276-1285.
8. Arullappan et al. (2014), “*In vitro* screening of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities of *Clinacanthus nutans* (Acanthaceae) leaf extracts”, *Trop. J. Pharm. Res.*, 13(9), 1455.
9. Md. Ariful Alam, S. Ferdosh, K. Ghafoor, A. Hakim, A.S. Juaraimi, et al. (2016), “*Clinacanthus nutans*: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry”, *Asia Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(4), pp. 402-409.
10. Md. Ariful Alam, I.S.M Zaidul, Kashif Ghafoor, F. Sahena, M.A. Hakim, et al. (2017), “*In vitro* antioxidant and α – glucosidase inhibitory activities and comprehensive metabolite profiling of methanol extract and its fraction from *Clinacanthus nutans*”, *BMC Complementary and Alternative Medicine*.
11. P. Pannangpetch, P. Laupattarakasem, V. Kukongviriyapan, U. Kukongviriyapan, B. Kongyingyoes, et al. (2007), “Antioxidant activity and protective effect against oxidative hemolysis of *Clinacanthus nutans* (Burm. f) Lindau”, *J Sci Technol*, 29 (Suppl. 1), pp. 1–9.
12. Pannangpetch P., et al. (2007), “Antioxidant activity and protective effect against oxidative hemolysis of *Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.”, *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 29(1), pp. 1-9.
13. Santi Sakdarat, et al. (2009), “Bioactive constituents from the leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, pp. 1857–1860.

(Ngày nhận bài: 10/11/2022 - Ngày duyệt đăng: 20/02/2023)
