

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA IN VITRO CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM TỪ ACTISÔ BẰNG THỬ NGHIỆM DPPH

Nguyễn Tấn Phát, Nguyễn Thiện Hải, Nguyễn Thị Ánh Nguyệt*

Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

*Email: ntanguyet@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 28/09/2024

Ngày phản biện: 22/12/2024

Ngày duyệt đăng: 25/12/2024

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Actisô (*Cynara scolymus* L.) là một trong các dược liệu được ưu tiên đầu tư phát triển ở Việt Nam. Thành phần hóa học của Actisô chủ yếu là các polyphenol đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Trên thị trường trong và ngoài nước có rất nhiều chế phẩm có chứa cao chiết từ lá Actisô với nhiều dạng bào chế khác nhau. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng polyphenol giữa các chế phẩm này nên có thể ảnh hưởng đến tác dụng của chúng. **Mục tiêu nghiên cứu:** Đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các chế phẩm từ Actisô trên mô hình in vitro bằng thử nghiệm DPPH. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 19 chế phẩm Actisô được thu thập trên thị trường trong và ngoài nước. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH. **Kết quả:** Có sự tương quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu thử nghiệm với hệ số tương quan R^2 từ 0,984 đến 0,998. Các chế phẩm nước ngoài N.CP (1-8) có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn các chế phẩm trong nước V.CP (8-16), ngoại trừ chế phẩm V.CP11, V.CP14-16. **Kết luận:** Đã khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và xác định IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) của 19 chế phẩm so với chứng dương là vitamin C và silymarin. Kết quả cho thấy phần lớn các chế phẩm nước ngoài có hoạt tính chống oxy hóa trung bình, trong khi các chế phẩm trong nước có hoạt tính rất khác biệt từ không có tác dụng đến có hoạt tính khá.

Từ khóa: Actisô, chống oxy hóa, *Cynara scolymus*, DPPH, polyphenol.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME ARTICHOKE PREPARATIONS USING THE DPPH ASSAY

Nguyen Tan Phat, Nguyen Thien Hai, Nguyen Thi Anh Nguyet*

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

Background: Artichoke (*Cynara scolymus* L.) is a medicinal plant prioritized for strategic development and investment in Vietnam. Its chemical composition is predominantly polyphenols, which have been demonstrated to exhibit strong antioxidant activity. In both domestic and foreign markets, numerous preparations containing artichoke leaf extracts available in various formulations. However, some studies indicate significant differences in polyphenol content among these formulations, which may influence their pharmacological effects. **Objectives:** To evaluate the antioxidant activity of artichoke preparations in vitro model using the DPPH assay. **Materials and methods:** 19 Artichoke preparations were collected from the domestic and foreign markets. Antioxidant activity was evaluated by DPPH free radical scavenging method. **Results:** There was a correlation between the concentration and antioxidant activity of the test samples with a correlation coefficient R^2 ranging from 0.984 to 0.998. Foreign formulations N.CP (1-8) had higher antioxidant activity than domestic formulations V.CP (8-16), except for formulations V.CP11, V.CP14-16. **Conclusions:** Antioxidant activity and IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) of 19 formulations were investigated compared to positive controls vitamin C and silymarin. The results indicate that most foreign formulations

exhibit moderate antioxidant activity, while domestic formulations vary significantly in quality, ranging from no effect to relatively high activity.

Keywords: Artichoke, antioxidant, *Cynara scolymus*, DPPH, polyphenol.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Actisô (*Cynara scolymus* L.) (đồng danh là *Cynara cardunculus* L.) là cây thân thảo thuộc họ Cúc (Asteraceae) có nguồn gốc từ vùng Địa Trung Hải [1]. Actisô được trồng nhiều tại Ý, Ai Cập, Tây Ban Nha và Áo, trong đó Ý là quốc gia đứng đầu về sản lượng [2]. Các quốc gia này đã và đang tập trung đầu tư vào việc nghiên cứu, phát triển các sản phẩm từ Actisô không chỉ nhằm đạt tiêu chuẩn chất lượng theo dược điển mà còn giúp nâng cao chất lượng của sản phẩm.

Ở Việt Nam, cây Actisô là một trong các dược liệu được ưu tiên đầu tư phát triển được trồng chủ yếu tại Đà Lạt và Sapa. Lá Actisô thường được sử dụng làm thực phẩm chức năng bảo vệ gan [3], [4], giảm mỡ máu [5], [6] và được dùng điều trị các triệu chứng của hội chứng ruột kích thích [7], [8]. Các polyphenol bao gồm các dẫn xuất của acid caffeoylquinic (CQA) gồm mono-CQA (5-CQA= acid chlorogenic); di-CQA (1,3-CQA= cynarin) và flavonoid (dẫn xuất luteolin) là các hợp chất chính trong lá Actisô [9]. Các polyphenol này đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Hiện nay, trên thị trường dược phẩm trong và ngoài nước có rất nhiều chế phẩm có chứa cao chiết từ lá Actisô với nhiều dạng bào chế khác nhau như viên nang, viên nén, trà túi lọc, cao lỏng, cao đặc và cao khô,... Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng polyphenol giữa các chế phẩm này nên có thể ảnh hưởng đến tác dụng của chúng [10]. Ở nước ta hiện chưa có nghiên cứu nào so sánh và đánh giá về tác dụng sinh học của các chế phẩm Actisô trong nước cũng như các chế phẩm nước ngoài. Chính vì vậy, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: Đánh giá tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của các chế phẩm từ Actisô bằng thử nghiệm DPPH, nhằm sơ bộ đánh giá về chất lượng của các sản phẩm Actisô trong và ngoài nước. Từ đó, tạo nền tảng khoa học vững chắc để cải thiện quy trình sản xuất. Đồng thời, nghiên cứu cũng sẽ mang lại lợi ích cho sức khỏe người tiêu dùng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

19 chế phẩm Actisô gồm nhiều dạng bào chế khác nhau (viên nén, viên nang, cao lỏng và cao đặc) được thu thập ở thị trường trong nước và nước ngoài (Pháp, Đức, Ý). Trong đó, các chế phẩm NC.CP17-19 là chế phẩm nghiên cứu được cung cấp bởi Trung tâm Khoa học Công nghệ Dược Sài Gòn (SAPHARCEN) thuộc Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh. Các chế phẩm được lựa chọn là các sản phẩm uy tín và chỉ chứa thành phần chính là cao chiết từ lá Actisô và có hoặc không có tá dược nhưng không có thêm cao chiết dược liệu khác. Các mẫu được lưu tại Bộ môn Dược liệu, khoa Dược, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh. Các chế phẩm này đã được so sánh về hàm lượng polyphenol toàn phần bằng phương pháp Folin-ciocalteu [10] cũng như 11 hợp chất polyphenol chính [11].

Thiết bị, hóa chất, dung môi: Chất chuẩn silymarin (Sigma, số lô 31K1467), acid ascorbic (Sigma, số lô A92902). Thuốc thử DPPH (Sigma, số lô STBD1145V), methanol (Labscan), DMSO (Merck). Máy đọc đĩa 96 giếng (Microplate Reader iMark™, BioRad).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Nguyên tắc:** DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) là một gốc tự do có bước sóng hấp thụ cực đại $\lambda_{\max} = 517 \text{ nm}$ và có màu tím. Các chất chống oxy hóa sẽ trung hòa gốc tự do DPPH bằng cách cho hydro, làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch chuyển từ tím sang vàng.

- **Cách tiến hành:** Mô hình thử nghiệm được thực hiện bởi Kulisic và cộng sự (2004), bổ sung bởi Obeid và cộng sự (2005) [12]. Nồng độ sau phản ứng của DPPH là 0,08 mM, bước sóng phát hiện ở 517 nm, thời gian đo độ hấp thụ là 30 phút sau khi phản ứng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình $\pm$ SD. Acid ascorbic và silymarin được dùng làm chất đối chiếu. Hoạt tính chống oxy hóa (%) tính theo công thức: % Hoạt tính chống oxy hóa = $[(OD_{\text{chứng}} - OD_{\text{thử}})/(OD_{\text{chứng}} - OD_{\text{trắng}})] \times 100$. Trong đó: OD - Độ hấp thụ.

- **Xử lý thống kê:** Xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One - Way ANOVA và phép kiểm t-test bằng phần mềm Excel 2010. Sự khác biệt được xem là có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

- Cách bố trí thí nghiệm:

Khảo sát tỉ lệ dung môi hòa tan mẫu thử: Khảo sát tỉ lệ methanol (MeOH), nước và DMSO phù hợp để hòa tan hoàn toàn cao chiết có trong các chế phẩm. Kết quả nhận thấy hỗn hợp dung môi hòa tan tốt nhất (có hỗ trợ siêu âm) cho tất cả các cao chiết là: 20% DMSO, 60% H₂O và 20% MeOH.

Chuẩn bị dung dịch thử: Cân lượng chế phẩm tương ứng với 50 mg Actisô (đã trừ tá dược và thành phần khác) cho vào bình định mức 50 mL, thêm 40 mL hỗn hợp dung môi hòa tan đã khảo sát ở trên, siêu âm cho tan hoàn toàn và bổ sung dung môi đến thể tích vừa đủ. Sau khi pha được dung dịch cao chiết có nồng độ 1 mg/mL (1000 µg/mL), pha loãng dung dịch này 2 lần bằng MeOH để thu được giai mẫu nồng độ: 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,50 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,62 µg/mL; 7,81 µg/mL; 3,90 µg/mL.

Chuẩn bị thuốc thử DPPH 0,16 mM: Pha DPPH trong MeOH, đựng trong chai thủy tinh màu, pha xong dùng ngay, bảo quản ở 4 °C. Nồng độ thuốc thử DPPH trong thử nghiệm sau khi thêm các thành phần phản ứng là 0,08 mM.

Xác định IC₅₀: Dựa vào nồng độ giai mẫu thử đã pha và phần trăm hoạt tính chống oxy hóa tính toán được, lập phương trình hồi quy $y = ax + b$ thể hiện mối tương quan giữa % hoạt tính (y) và nồng độ (x). Từ đó, xác định IC₅₀ bằng cách thế $y = 50$ vào phương trình hồi quy. IC₅₀ mẫu thử nếu có nồng độ càng thấp tức là mẫu thử có tác dụng loại bỏ gốc tự do càng mạnh.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tiến hành thử nghiệm như đã trình bày ở phần phương pháp nghiên cứu. Các dãy nồng độ của từng mẫu cho hoạt tính chống oxy hóa tuyến tính với nồng độ tương ứng được trình bày ở Bảng 1.

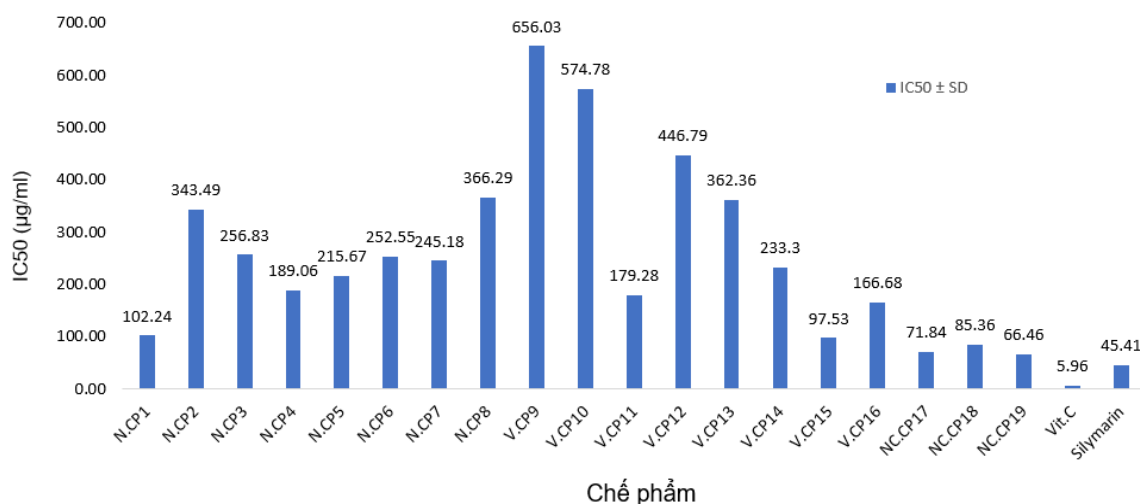
Kết quả cho thấy có sự tương quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu thử nghiệm với hệ số tương quan R^2 từ 0,984 đến 0,998. Giá trị IC₅₀ được tính từ phương trình hồi quy (xem Bảng 1 và Hình 1).

Bảng 1. Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của các chế phẩm

Chế phẩm	Nồng độ (µg/mL)	Hoạt tính chống oxy hóa (%)	Phương trình hồi quy	R ²	IC ₅₀ (n = 3) (µg/mL)
N.CP1	20 – 120	7,17 – 62,21	Y = 0,5454x - 5,7623	0,9922	102,24
N.CP2	100 – 500	7,85 – 77,25	Y = 0,168x - 7,7065	0,9922	343,49
N.CP3	50 – 500	3,94 – 69,95	Y = 0,2123x - 4,5249	0,9894	256,83
N.CP4	50 – 250	3,37 – 69,75	Y = 0,3313x - 12,636	0,9984	189,06
N.CP5	50 – 250	10,94 – 57,66	Y = 0,2333x + 0,3149	0,9987	215,67
N.CP6	20 – 250	1,02 – 50,10	Y = 0,2214x - 5,9135	0,9912	252,55
N.CP7	50 – 300	6,12 – 63,25	Y = 0,2352x - 7,6658	0,9945	245,18
N.CP8	50 – 400	6,12 – 55,25	Y = 0,1428x - 2,3065	0,9982	366,29
V.CP9	100 – 800	4,21 – 60,24	Y = 0,0791x - 1,8922	0,9956	656,03
V.CP10	100 – 700	4,21 – 60,24	Y = 0,0929x - 3,3967	0,9912	574,78
V.CP11	25 – 300	3,25 – 72,70	Y = 0,257x - 3,9241	0,9992	179,28
V.CP12	25 – 600	8,66 – 65,12	Y = 0,0988x - 5,8569	0,9918	446,79
V.CP13	25 – 500	8,66 – 68,12	Y = 0,1268x - 4,0578	0,9977	362,36
V.CP14	25 – 400	7,73 – 92,35	Y = 0,1589x - 1,1768	0,9974	233,3
V.CP15	10 – 125	0,62 – 63,00	Y = 0,5511x - 3,7464	0,9932	97,53
V.CP16	10 – 250	10,04 – 72,37	Y = 0,282x + 2,9967	0,9838	166,68
NC.CP17	25 – 100	9,33 – 72,5	Y = 0,8439x - 10,628	0,9976	71,84
NC.CP18	25 – 100	5,14 – 62,15	Y = 0,7361x - 12,833	0,9930	85,36
NC.CP19	5 – 100	2,55 – 76,27	Y = 0,78x - 1,8369	0,9918	66,46
Vitamin C	0,4 – 10	5,11 – 80,6	Y = 7,952x + 2,624	0,9980	5,96
Silymarin	20 – 100	35,21 – 80,64	Y = 0,589x + 23,24	0,9930	45,41

Ghi chú: N.CP (1-8): Chế phẩm nước ngoài; V.CP (9-16): Chế phẩm Việt Nam; NC.CP (17-19): Chế phẩm nghiên cứu

So sánh hoạt tính chống oxy hóa giữa các chế phẩm



Hình 1. Biểu đồ so sánh IC₅₀ của các chế phẩm trên thị trường so với chứng dương

Ghi chú: N.CP (1-8): Chế phẩm nước ngoài; V.CP (9-16): Chế phẩm Việt Nam; NC.CP (17-19): Chế phẩm nghiên cứu

Nhận xét: Từ Bảng 1 và Hình 1 cho thấy, các chế phẩm nước ngoài N.CP(1-8) có IC_{50} (102,24 – 366,29 $\mu\text{g/mL}$), các chế phẩm trong nước V.CP(8-16) có IC_{50} (97,35 – 656,03 $\mu\text{g/mL}$) và các chế phẩm nghiên cứu có IC_{50} (66,46 – 85,36 $\mu\text{g/mL}$). Qua đó nhận thấy các chế phẩm nước ngoài có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn các chế phẩm lưu hành trên thị trường Việt Nam vì có giá trị IC_{50} thấp hơn, ngoại trừ chế phẩm V.CP11, V.CP(14-16).

IV. BÀN LUẬN

Theo phân loại về khả năng chống oxy hóa dựa vào giá trị IC_{50} bằng phương pháp DPPH, hoạt tính chống oxy hóa được phân thành 5 mức độ: Mạnh ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$); khá ($50 - 100 \mu\text{g/mL}$); trung bình ($101 - 250 \mu\text{g/mL}$), yếu ($250 - 500 \mu\text{g/mL}$); và không có hoạt tính ($IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$) [13]. Nhìn chung, các chế phẩm nước ngoài N.CP(1-8) thể hiện hoạt tính chống oxy hóa ở mức độ trung bình với giá trị IC_{50} từ 189,06 - 256,83 $\mu\text{g/mL}$, ngoại trừ N.CP2 ($IC_{50}=343,49 \mu\text{g/mL}$). Đáng chú ý, chế phẩm N.CP1 với nhãn “premium” có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn các chế phẩm khác với $IC_{50} = 102,24 \mu\text{g/mL}$, điều này có thể là do hàm lượng polyphenol toàn phần cũng như các polyphenol chính trong chế phẩm này cao hơn gấp 2 – 4 lần so với các chế phẩm nước ngoài khác đã được so sánh ở các nghiên cứu trước đây [10]. Đối với các chế phẩm đang được lưu hành trên thị trường trong nước V.CP(9-16), nhìn chung hoạt tính chống oxy hóa của các chế phẩm này cũng có sự khác biệt đáng kể có thể là do hàm lượng polyphenol khác nhau giữa các chế phẩm này [10]. Trong đó, 2 chế phẩm V.CP9 và V.CP10 không có hoạt tính với $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$. Ba chế phẩm gồm V.CP8, V.CP12 và V.CP13 có hoạt tính yếu với IC_{50} từ 362,36 – 446,79 $\mu\text{g/mL}$ và chỉ có 3 chế phẩm có hoạt tính ở mức trung bình với IC_{50} từ 166,68 – 233,3 $\mu\text{g/mL}$. Tuy nhiên, bên cạnh đó vẫn có chế phẩm V.CP15 có hoạt tính ở mức khá với $IC_{50} = 97,53 \mu\text{g/mL}$. Điều này cũng phù hợp với kết quả định lượng hàm lượng polyphenol trong các chế phẩm này [10]. Do đó, có thể thấy có mối tương quan giữa hàm lượng polyphenol với hoạt tính chống oxy hóa bằng thử nghiệm DPPH. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu P. Pinelli và cs (2007) cũng đã chứng minh mối tương quan cao giữa hoạt tính chống oxy hóa trên thử nghiệm thu dọn gốc tự do DPPH với polyphenol toàn phần với hệ số tương quan Pearson ($r = 0,87$) [14]. Điều đáng chú ý là cả 3 chế phẩm nghiên cứu NC.CP(17-19) đều có thành phần polyphenol cao [10] nên hoạt tính chống oxy hóa đều đạt ở mức khá với IC_{50} từ 66,46 – 85,36 $\mu\text{g/mL}$, đều cao hơn so với các chế phẩm đang lưu hành trên thị trường trong và ngoài nước. Chính vì vậy, có thể hàm lượng polyphenol đóng vai trò quan trọng cho tác dụng chống oxy hóa của các chế phẩm từ Actisô. Do đó, các chế phẩm Actisô trong nước cần phải được kiểm soát từ khâu nguyên liệu đến bán thành phẩm và thành phẩm để đạt được chất lượng tương đương hoặc cao hơn so với chế phẩm của nước ngoài.

V. KẾT LUẬN

Đề tài đã khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và xác định IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) của 19 chế phẩm so với chứng dương là vitamin C và silymarin. Kết quả cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của các chế phẩm nước ngoài khá đồng đều, thường ở mức trung bình. Trong khi hoạt tính chống oxy hóa của các chế phẩm trong nước có sự chênh lệch đáng kể giữa các chế phẩm hiện đang lưu hành trên thị trường, có những chế phẩm không có hoạt tính đến một số chế phẩm thể hiện hoạt tính yếu đến trung bình. Hoạt tính chống oxy hóa của các chế phẩm này có thể có liên quan trực tiếp đến hàm lượng polyphenol của chúng. Chính vì vậy, cần phải có các tiêu chuẩn kiểm nghiệm phù hợp để kiểm soát chất lượng các chế phẩm Actisô được sản xuất trong nước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lattanzio V., Kroon P. A., Linsalata V., and Cardinali A. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of functional foods*. 2009. 1(2), 131-144, doi: 10.1016/j.jff.2009.01.002.
2. FAOSTAT. Artichoke. Accessed May 13, 2022. <https://www.fao.org/faostat/en/>.
3. Panahi Y., Kianpour P., Mohtashami R., Atkin S. L., Butler A. E., et al. Efficacy of artichoke leaf extract in non-alcoholic fatty liver disease: A pilot double-blind randomized controlled trial. *Phytotherapy Research*. 2018. 32(7), 1382-1387, doi: 10.1002/ptr.6073.
4. Rangboo V., Noroozi M., Zavoshy R., Rezadoost S. A. and Mohammadpoorasl A. The effect of artichoke leaf extract on alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the patients with nonalcoholic steatohepatitis. *International journal of hepatology*. 2016. 2016, doi: 10.1155/2016/4030476.
5. Gatmiri S. M., Khadem E., Fakhrian T., Kamalinejad M., Hosseini H., et al. The effect of artichoke leaf extract supplementation on lipid profile of chronic kidney disease patients; a double-blind, randomized clinical trial. *Journal of Renal Injury Prevention*. 2019. 8(3), 225-229, doi: 10.15171/jrip.2019.42.
6. Shahinfar H., Bazshahi E., Amini M. R., Payandeh N., Pourreza S., et al. Effects of artichoke leaf extract supplementation or artichoke juice consumption on lipid profile: A systematic review and dose–response meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy Research*. 2021. 35(12), 6607-6623, doi: 10.1002/ptr.7247.
7. Walker A. F., Middleton R. W., and Petrowicz O. Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a post-marketing surveillance study. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2001. 15(1), 58-61, doi: 10.1002/1099-1573(200102)15:1%3C58::AID-PTR805%3E3.0.CO;2-R.
8. Bundy R., Walker A. F., Middleton R. W., Marakis G. and Booth J. C. Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome and improves quality of life in otherwise healthy volunteers suffering from concomitant dyspepsia: a subset analysis. *Journal of Alternative Complementary Medicine*. 2004. 10(4), 667-669, doi: 10.1089/acm.2004.10.667.
9. Abu-Reidah I. M., Arráz-Román D., Segura-Carretero A., and Fernández-Gutiérrez A. Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC–DAD–ESI–QTOF–MS. *Food chemistry*. 2013. 141(3), 2269-2277, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.066.
10. Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Nguyễn Minh Trung, Thi Đại Thanh, Nguyễn Thiện Hải, Phạm Đông Phương. Định lượng polyphenol toàn phần trong các chế phẩm Actisô bằng phương pháp Folin-Ciocalteu. *Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 2024. 1/2024.
11. Nguyen N. A., Le T. M., Nguyen H. T., Pham K. H., Truong H. P., et al. Method Development for Simultaneous Quantification of Polyphenol Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Leaf Dry Extract by UPLC-PDA. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2023. 7(10), doi: 10.26538/tjnpr/v7i9.22.
12. Kulisic T., Radonic A., Katalinic V., and Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*. 2004. 85(4), 633-640, doi: 10.1016/j.foodchem.2003.07.024.
13. Marjoni M. and Zulfisa A. Antioxidant activity of methanol extract/fractions of senggani leaves (*Melastoma candidum* D. Don). *Pharm Anal Acta*. 2017. 8(8), 1-6, doi: 10.4172/2153-2435.1000557.
14. Yang M., Ma Y., Wang Z., Khan A., Zhou W., et al. Phenolic constituents, antioxidant and cytoprotective activities of crude extract and fractions from cultivated artichoke inflorescence. *Ind Crops Prod*. 2020. 143, 111433, doi: 10.1016/j.indcrop.2019.05.082.