



Original Article

Cytotoxicity and Antioxidant Effects of *Celastrus hindsii* Benth. Leaf Extract

Bui Thi Thanh Duyen¹, Dang Kim Thu¹, Vu Manh Hung², Bui Thanh Tung^{1,*}

¹VNU School of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University, Hanoi,
144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²Vietnam Military Medical University, 160 Phung Hung, Phuc La, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

Received 10 February 2020

Revised 18 February 2020; Accepted 20 March 2020

Abstract: *Celastrus hindsii* Benth. et Hook. is known as a herbal medicine for the treatment of cancer. This study evaluates the cytotoxic and antioxidant effects of *Celastrus hindsii* Benth. et Hook. Leaf extract. Samples of *Celastrus hindsii* were extracted with ethanol 90% and subsequently fractionated with n-hexane, ethyl acetate (EtOAc) and n-butanol (n-BuOH) solvents. To evaluate the cytotoxic effect, MTT (3- (4,5 dimethylthiazol-2 - yl) – 2,5 - diphenyltetrazolium) assay on the three cell lines: human liver Hep G2 (HB - 8065TM), lung LU-1 (HTB - 57TM), and breast MCF-7 (HTB - 22TM) was performed. The antioxidant effect was evaluated by screening DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. The results show that the EtOAc fraction had the strongest cytotoxicity effect on liver cancer cells and lung cancer cells with an IC₅₀ value of 33.7 ± 1.5 µg/mL and 13.0±0.5µg/mL. The BuOH fraction shows a weaker effect on lung cancer cells with IC₅₀ value of 64.0 ± 2.2 µg/mL. The antioxidant results indicate that the EtOAc fraction had the best antioxidant effect with IC₅₀ value of 46.9 ± 2.5µg/mL. The EtOH total extract also had a strong antioxidant activity with IC₅₀ value of 48.5 ± 2.3µg/mL. Overall, the study shows that *Celastrus hindsii* leaf extract has strong cytotoxicity and antioxidant activities.

Keywords: *Celastrus hindsii* Benth. et Hook., cytotoxicity, MTT, antioxidant, DPPH.

* Corresponding author.

E-mail address: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4203>



Nghiên cứu tác dụng ức chế tế bào ung thư và chống oxy hóa của lá xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.)

Bùi Thị Thanh Duyên¹, Đặng Kim Thu¹, Vũ Mạnh Hùng², Bùi Thanh Tùng^{1,*}

¹*Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

²*Học Viện Quân Y, 160 Phùng Hưng, Phúc La, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 10 tháng 02 năm 2020

Chỉnh sửa ngày 18 tháng 02 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 3 năm 2020

Tóm tắt: Cây xạ đen được biết đến trong dân gian là một dược liệu có tác dụng trong điều trị ung thư. Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư và tác dụng chống oxy hóa của lá xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.). Mẫu lá xạ đen được chiết bằng ethanol 90% và tiến hành chiết phân đoạn lần lượt với n-hexane (Hex), ethyl acetate (EtOAc) và n-butanol (n-BuOH). Tác dụng ức chế tế bào ung thư được thực hiện bằng phương pháp MTT (3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) trên 3 dòng tế bào: ung thư gan Hep G2 (HB - 8065TM), ung thư phổi LU-1 (HTB - 57TM), ung thư vú MCF-7 (HTB - 22TM). Tác dụng chống oxy hóa được tiến hành thông qua phương pháp quét gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Kết quả ức chế tế bào ung thư cho thấy phân đoạn EtOAc có tác dụng gây độc tế bào ung thư gan, phổi mạnh nhất so với các phân đoạn khác với IC₅₀ lần lượt là 33,7 ± 1,5 µg/mL và 13,0 ± 0,5 µg/mL. Phân đoạn BuOH cho tác dụng yếu hơn với tế bào ung thư phổi với IC₅₀ là 64,0 ± 2,2 µg/mL. Kết quả chống oxy hóa chỉ ra rằng phân đoạn EtOAc có tác dụng chống oxy hóa tốt nhất với IC₅₀ là 46,9 ± 2,5 µg/mL. Cao EtOH toàn phần cũng thể hiện tác dụng chống oxy hóa mạnh với IC₅₀ là 48,5 ± 2,3 µg/mL. Kết quả nghiên cứu này cho thấy cao chiết lá xạ đen có tác dụng ức chế tế bào ung thư và chống oxy hóa cao.

Từ khóa: Xạ đen, *Celastrus hindsii* Benth. et Hook, độc tính tế bào, MTT, chống oxy hóa, DPPH.

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, tỷ lệ mắc các bệnh ung thư đang ngày càng gia tăng và đang ở mức đáng báo động trên thế giới cũng như tại

Việt Nam. Ung thư là một bệnh lý ác tính của tế bào. Khi có các tác nhân gây ung thư, các tế bào tăng sinh không kiểm soát được, có khả năng xâm lấn và di căn, ảnh hưởng xấu đến sức khỏe

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4203>

con người [1]. Có nhiều nguyên nhân gây nên bệnh ung thư. Có thể kể đến là yếu tố ngoại sinh như các tia phóng xạ, bức xạ tử ngoại, virus, các chất hóa học độc hại trong môi trường, trong thực phẩm,... và yếu tố nội sinh như hormon, gen di truyền,... [2]. Việc điều trị ung thư được tiến hành bằng các phương pháp đặc trưng như phẫu thuật, xạ trị, hóa trị,... Tuy nhiên chi phí rất lớn, có thể trở thành gánh nặng cho một số bệnh nhân có hoàn cảnh khó khăn nên ngày nay xu hướng trong điều trị bệnh ung thư là sử dụng các dược liệu. Dược liệu là nguồn nguyên liệu dễ kiếm, chi phí rẻ, có tác dụng tốt và ít tác dụng không mong muốn.

Xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.) là loại dược liệu phân bố nhiều ở Trung Quốc và các nước như Việt Nam, Ấn Độ, Myanma,... Tại Việt Nam, xạ đen phân bố ở các tỉnh như Hòa Bình, Hà Nam, Ninh Bình,... [3]. Xạ đen cũng như nhiều loại cây khác thuộc họ *Celastraceae* rất giàu các hợp chất như alkaloids, sesquiterpenes, diterpenes, triterpen, glycoside tim và flavonoid; các hợp chất này thể hiện tác dụng diệt khuẩn và chống ung thư *in vitro* [4, 5]. Theo y học cổ truyền, xạ đen có tác dụng thông kinh, lợi niệu. Rễ và vỏ cây được dùng để trị các bệnh kinh nguyệt không đều, bế kinh, viêm thận và các bệnh liên quan đến đường tiết niệu [3]. Hiện nay tại Việt Nam chưa có nhiều bằng chứng khoa học về tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư của cây xạ đen. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này để đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư và tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn dịch chiết lá cây xạ đen.

2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Lá xạ đen được thu hái vào tháng 6 năm 2019 tại Buôn Ma Thuột. Mẫu nghiên cứu được giám định thực vật học bởi Bộ môn Dược liệu và Y học Cổ truyền, Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Lá xạ đen sau khi thu hái được rửa sạch, sấy khô ở 50°C và cắt nhỏ. Tiến hành chiết xuất 1 kg lá xạ đen với dung môi ethanol 90% thu được dịch chiết, lặp lại 3 lần, gộp dịch chiết sau

đó lọc. Cô quay thu hồi dung môi, thu được cao toàn phần EtOH (300g). Cao toàn phần EtOH (100g) tiếp tục được chiết phân đoạn như sau: hòa tan cao tổng vào nước sau đó chiết lần lượt bằng các dung môi n-hexane 5 g, EtOAc 32 g và n-Butanol 50 g thu được các phân đoạn dịch chiết. Cô quay thu hồi căn dịch chiết các phân đoạn để tiến hành thử hoạt tính.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp đánh giá khả năng độc tính tế bào

Hoạt tính độc tính tế bào được thực hiện dựa trên phương pháp MTT (3-(4,5 dimethylthiazol-2 - yl)- 2, 5 - diphenyltetrazolium). Đây là phương pháp đánh giá khả năng sống sót của tế bào qua khả năng khử MTT (màu vàng) thành một phức hợp formazan (màu tím) bởi hoạt động của enzym dehydrogenase trong ty thể [6]. Nghiên cứu này chúng tôi tiến hành trên 3 dòng tế bào ung thư: ung thư gan Hep G2 (HB - 8065TM), ung thư phổi LU-1 (HTB - 57TM), ung thư vú MCF-7 (HTB - 22TM). Mẫu thử được hòa tan bằng dung môi dimethyl sulfoxid (DMSO) với nồng độ ban đầu là 20 mg/mL. Tiến hành pha loãng 2 bước trên đĩa 96 giếng thành 5 dãy nồng độ từ cao xuống thấp lần lượt là 2564; 640; 160; 40 và 10 µg/mL. Nồng độ chất thử trong đĩa thử nghiệm tương ứng là 128; 32; 8; 2 và 0,5 µg/mL. Chất đối chứng Ellipticine pha trong DMSO với nồng độ 0,01 mM. Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm tế bào. Tiếp đó, pha tế bào bằng môi trường sạch và điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm (khoảng $1-3 \times 10^4$ tế bào/mL tùy theo từng dòng tế bào). Lấy vào mỗi giếng 10 µL chất thử đã chuẩn bị ở trên và 190 µL dung dịch tế bào. Đối chứng dương của thí nghiệm là môi trường có chứa tế bào, đối chứng âm chỉ có môi trường nuôi cấy. Đĩa thí nghiệm được ủ ở điều kiện tiêu chuẩn. Sau 72 giờ mỗi giếng thí nghiệm được tiếp tục ủ với 10 µL MTT (5 mg/mL) trong 4h. Sau khi loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 100 µL DMSO 100%. Kết quả thí nghiệm được xác định bằng giá trị OD đo ở bước sóng

540 nm trên máy quang phổ Biotek. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Giá trị IC_{50} được xác định thông qua giá trị % ức chế tế bào phát triển và phần mềm máy tính Rawdata.

$$\% \text{ ỨC CHẾ TẾ BÀO} = \frac{(OD_{\text{chứng (+)}} - OD_{\text{mẫu thử}})}{(OD_{\text{chứng (+)}} - OD_{\text{chứng (-)}}) \times 100\%}$$

Giá trị IC_{50} của mẫu được tính dựa theo đồ thị nồng độ mẫu thử (C) và phần trăm ức chế (%I).

2.2.2. Phương pháp đánh giá tác dụng chống oxy hóa

Ở nhiệt độ phòng, gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ổn định và có màu tím trong dung môi MeOH. Khi có sự có mặt của các chất chống oxy hóa, DPPH sẽ kết hợp với các chất chống oxy hóa này và làm cho dung dịch chuyển sang màu vàng làm giảm cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu tại bước sóng 517 nm. Tiến hành đo độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm để tính toán lượng DPPH còn lại. Thông qua đó đánh giá được khả năng chống oxy hóa của mẫu thử nghiệm so với mẫu đối chứng [7, 8]. Mẫu thử được pha trong dung môi MeOH thành dãy các nồng độ khác nhau. Hỗn hợp phản ứng gồm: 160 μL dung dịch DPPH (nồng độ 0,24 mg/mL pha trong MeOH), 100 μL dịch thử các mẫu và 740 μL MeOH được ủ ở 25°C trong 15 phút. Song song với mỗi mẫu thử, tiến hành đo mẫu chứng với cùng điều kiện và thành phần gồm: 840 μL MeOH và 160 μL dung dịch DPPH (nồng độ 0,24 mg/mL trong methanol). Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Hoạt tính quét gốc tự do DPPH được đánh giá thông qua giá trị phần trăm ức chế (%) và được tính theo công thức:

$$\% I = \frac{A_c - A_t}{A_c - A_0} \times 100\%$$

Trong đó:

I %: Hoạt tính chống oxy hóa;

A_c : Độ hấp thụ của mẫu chứng;

A_t : Độ hấp thụ của mẫu thử;

A_0 : Độ hấp thụ của mẫu trắng (sử dụng methanol).

Tác dụng chống oxy hóa của dịch chiết được so sánh với chất chuẩn dương là acid ascorbic. Giá trị IC_{50} của mẫu được tính dựa theo đồ thị nồng độ mẫu thử (C) và phần trăm ức chế (%I).

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được tổng hợp và phân tích trên máy tính bằng phần mềm Sigma Plot. Các kết quả được biểu diễn dưới dạng $X \pm SD$. X là giá trị trung bình và SD là độ lệch chuẩn.

3. Kết quả

3.1. Tác dụng độc tính trên các dòng tế bào ung thư

Tác dụng độc tính trên các dòng tế bào ung thư của các phân đoạn dịch chiết lá xạ đen được thể hiện thông qua giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ở Bảng 1.

Bảng 1. Tác dụng độc tính của các phân đoạn dịch chiết lá xạ đen trên ba dòng tế bào ung thư gan, phổi và vú

Mẫu thử	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		
	Hep-G2	Lu	MCF7
EtOH	>256	>256	>256
EtOAc	33,7 \pm 1,5	13,0 \pm 0,5	121,1 \pm 3,5
n-BuOH	160,0 \pm 5,5	64,0 \pm 2,2	>256
Ellipticine	0,35 \pm 0,02	0,45 \pm 0,03	0,58 \pm 0,05

Từ Bảng 1, thuốc đối chứng dương Ellipticine cho thấy tác dụng gây độc rõ rệt đối với cả ba dòng tế bào ung thư gan, phổi và vú với IC_{50} lần lượt là 0,35 \pm 0,02; 0,45 \pm 0,03 và 0,58

\pm 0,05 ($\mu\text{g/mL}$). Cao chiết toàn phần EtOH chưa thể hiện tác dụng độc tính với các dòng tế bào ung thư. Phân đoạn EtOAc có tác dụng độc tính với hai dòng tế bào ung thư gan và phổi, với IC_{50}

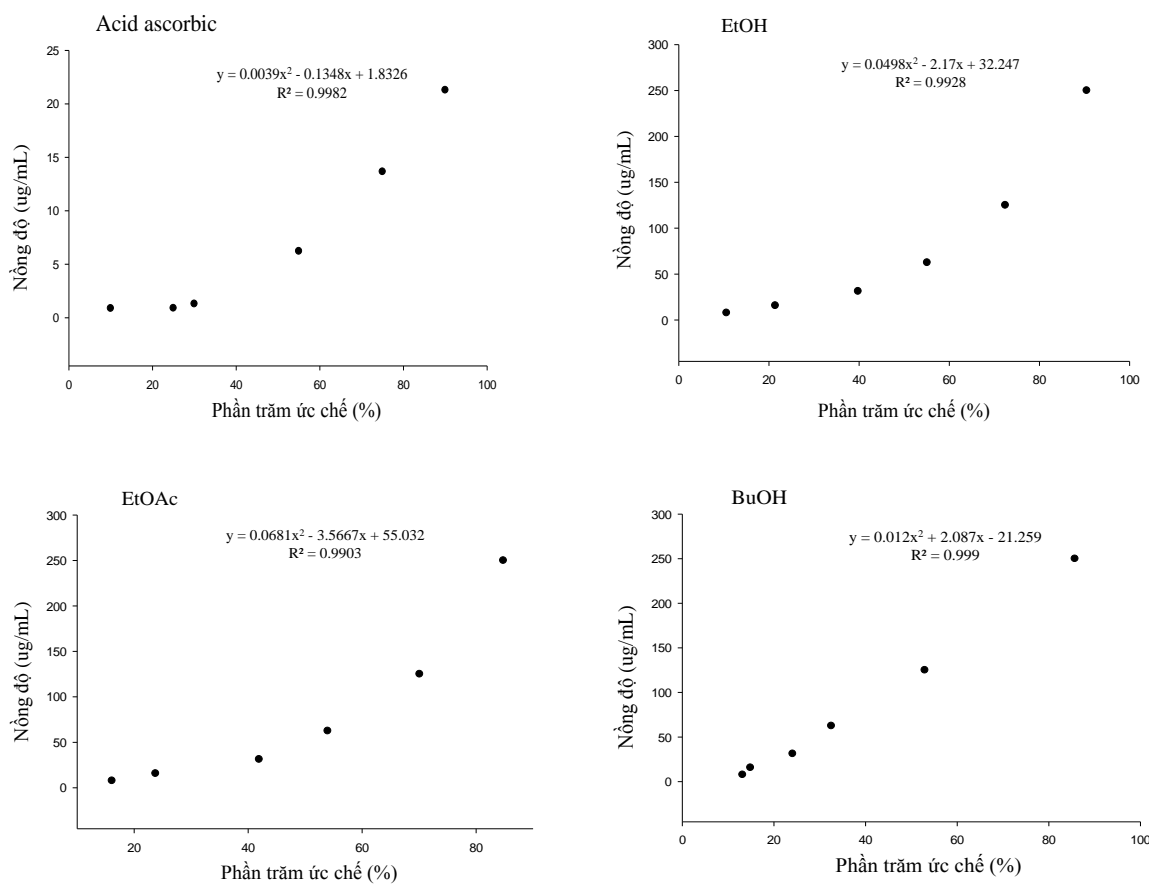
lần lượt là $33,7 \pm 1,5$ và $13,0 \pm 0,5$ $\mu\text{g/mL}$. Phân đoạn BuOH có khả năng gây độc nhẹ với tế bào ung thư phổi, IC_{50} là $64,0 \pm 2,2$ $\mu\text{g/mL}$.

3.2. Tác dụng chống oxy hóa

Để đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn dịch chiết lá cây xạ đen, chúng tôi tiến hành phương pháp DPPH và thu được kết quả như Bảng 2.

Bảng 2. Tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn dịch chiết lá xạ đen

Mẫu thử	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Cao EtOH	$48,5 \pm 2,3$
EtOAc	$46,9 \pm 2,5$
BuOH	$113,2 \pm 2,9$
Acid ascorbic	$4,8 \pm 0,3$



Hình 1. Đồ thị biểu diễn khả năng quét gốc tự do DPPH của acid ascorbic và các phân đoạn của cao chiết lá xạ đen.

Từ Bảng 2 và Hình 1, ta thấy phân đoạn EtOAc có tác dụng chống oxy hóa tốt nhất, IC_{50} là $46,9 \pm 2,5$ $\mu\text{g/mL}$. Cao toàn phần EtOH cũng thể hiện tác dụng chống oxy hóa cao với IC_{50} là $48,5 \pm 2,2$ $\mu\text{g/mL}$. Phân đoạn BuOH thể hiện tác dụng chống oxy hóa yếu với IC_{50} thu được là $113,2 \pm 2,9$ $\mu\text{g/mL}$. Song song với mẫu thử tiên

hành tương tự với mẫu chứng là acid ascorbic thu được giá trị IC_{50} là $4,8 \pm 0,3$ $\mu\text{g/mL}$.

4. Bàn luận

Chúng tôi tiến hành phương pháp MTT để đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư của

các phân đoạn của dịch chiết lá xạ đen. Phân đoạn EtOAc cho tác dụng với hai dòng tế bào ung thư gan và phổi có giá trị IC_{50} lần lượt là $33,68 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$; và $13,0 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$. Phân đoạn BuOH có tác dụng gây độc nhẹ với dòng tế bào ung thư phổi với IC_{50} là $64,0 \pm 2,2 \mu\text{g/mL}$. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu đã được thực hiện trước đó. Xian-Qing Hu có nghiên cứu dịch chiết cây xạ đen có độc tính tế bào chống lại bốn dòng tế bào ung thư người: tế bào ung thư phổi NCI – H187 với IC_{50} trong khoảng $14,9 \pm 2,1 \mu\text{g/mL}$ đến $36,8 \pm 2,1 \mu\text{g/mL}$ và ức chế tế bào ung thư đại tràng HCT116 với IC_{50} trong khoảng $32,9 \pm 2,2 \mu\text{g/mL}$ đến $35,6 \pm 2,2 \mu\text{g/mL}$, tế bào ung thư vú BC-1 là $19,8 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$ và tế bào ung thư gan HuH7 là $21,2 \pm 1,9 \mu\text{g/mL}$ [9]. Trong báo cáo tổng quan về các thực vật thuộc họ Celastraceae của tác giả Alan C. Spivey thì các chất được tìm thấy trong dịch chiết các phần của cây xạ đen có tác dụng invitro ức chế một số dòng tế bào ung thư ở người như tế bào ung thư vòm họng, ung thư cổ tử cung, ung thư biểu mô đại tràng, ung thư gan,... [10]. Yao Haur Kou và các cộng sự đã tiến hành nghiên cứu đánh giá sinh học lá xạ đen cho thấy hợp chất maytenfolone-A trong lá xạ đen có độc tính tế bào chống lại ung thư gan (HEPA-2B, $ED_{50} = 2,3 \mu\text{g/mL}$) và ung thư biểu mô vòm họng (KB, $ED_{50} = 3,8 \mu\text{g/mL}$) [5].

Phương pháp quét gốc tự do DPPH là một phương pháp được sử dụng rộng rãi trong mô hình đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các chất vì nó nhanh và đơn giản [7,11]. Vì thế chúng tôi cũng sử dụng phương pháp DPPH để đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn mẫu thử. Chất đối chứng chúng tôi sử dụng là acid ascorbic thu được giá trị IC_{50} của acid ascorbic là $4,84 \mu\text{g/mL}$ tương đồng với các nghiên cứu trước đây [12]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng cao tổng EtOH và phân đoạn EtOAc thể hiện được hoạt tính chống oxy hóa với IC_{50} lần lượt là $48,45 \mu\text{g/mL}$ và $46,94 \mu\text{g/mL}$. Các thí nghiệm của các tác giả khác cũng có kết quả tương tự nghiên cứu của chúng tôi. Tác giả Trần Đức Việt chỉ ra được phân đoạn ethylacetate có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất (IC_{50} là $53,38 \pm 0,98 \mu\text{g/mL}$) so với các

chiết xuất khác, dịch chiết nước IC_{50} là $108,22 \pm 0,48 \mu\text{g/mL}$, trong khi chiết xuất hexane không cho thấy bất kỳ hoạt động chống oxy hóa nào [13]. Các tác giả đến từ Đại học Quốc gia Chung-nam, Hàn Quốc đã nghiên cứu sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa của các cây thuốc tại Việt Nam. Trong đó, có kết quả chỉ ra rằng cây xạ đen có tác dụng ức chế quét gốc tự do DPPH với IC_{50} là $32,3 \mu\text{g/mL}$ [8]. Tác giả Lý Ngọc Trâm cùng các cộng sự của mình đã nghiên cứu phân lập ra được các hợp chất polyphenol trong lá cây xạ đen có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm,... [11,14].

5. Kết luận

Nghiên cứu của chúng tôi đã đánh giá được tác dụng gây độc tế bào ung thư. Phân đoạn EtOAc cho tác dụng mạnh nhất với hai dòng tế bào ung thư gan và phổi với IC_{50} lần lượt là $33,68 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$ và $13,0 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$. Phân đoạn BuOH có tác dụng yếu hơn với dòng tế bào ung thư phổi với IC_{50} là $64,0 \pm 2,2 \mu\text{g/mL}$. Phân đoạn EtOAc cũng có tác dụng chống oxy hóa mạnh nhất với IC_{50} là $46,94 \pm 2,54 \mu\text{g/mL}$ và phân đoạn EtOH có IC_{50} là $48,45 \pm 2,25 \mu\text{g/mL}$. Từ kết quả trên, chúng tôi nhận định rằng, các phân đoạn của dịch chiết lá cây xạ đen có tác dụng chống oxy hóa tốt và khả năng gây độc với các dòng tế bào ung thư.

Tài liệu tham khảo

- [1] Ministry of health, General oncology. 2009: Vietnam Education Publishing House Limited Company, 9-10.
- [2] N.V. Tuyen, Pharmaceutical chemistry curriculum, 2014, Science and Technics Publishing House. 222-223.
- [3] V.V. Chi. Dictionary of Vietnamese medicinal plants. Medical Publishing House 1 (2012).
- [4] V. Gan, G. Chen, W. Zhang, J. Zhou . Oleanen induces apoptosis of cervical cancer cells by up-regulation of Bim. International Journal of Gynecologic Cancer 22(1) (2012) 38.
- [5] Y.H. Kuo, L.M.Y. Kuo. Antitumour and anti-AIDS triterpenes from *Celastrus hindsii*. Phytochemistry 44(7) (1997) 1275.

- [6] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays 65(1-2) (1983) 55.
- [7] P. Mahakunakorn, M. Tohda, Y. Murakami, K. Matsumoto, H.J.B. Watanabe, P. Bulletin, Antioxidant and free radical-scavenging activity of Choto-san and its related constituents 27(1) (2004) 38.
- [8] P.T. Thuong, M.K. Na, N.H. Dang, T.M. Hung, P.T. Ky, T.V. Thanh, et al. Antioxidant activities of Vietnamese medicinal plants 12(1) (2006) 29.
- [9] X.Q. Hu, W. Han, Z.Z. Han, Q.X. Li, X.K. Xu, P. Fu, et al. A new macrocyclic lactone and a new quinoflavan from *Celastrus hindsii*. Phytochemistry letters 7 (2014) 169.
- [10] A.C. Spivey, M. Weston, Woodhead SJCSR. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis 31(1) (2002) 43.
- [11] T.L. Ngoc, Technology. Separation process of rosmarinic acid and their derivatives from *Celastrus hindsii* benth leaves. Vietnam Journal of Science 54(2C) (2016) 380.
- [12] F.R. Mowsumi, A. Rahaman, N.C. Sarker, B.K. Choudhury, Hossain SJWJPPS. In vitro relative free radical scavenging effects of *Calocybe indica* (milky oyster) and *Pleurotus djamor* (pink oyster). 4(07) (2015).
- [13] T.D. Viet, T.D. Xuan, T.M. Van, Y. Andriana, R. Rayee, H.D. Tran. Comprehensive Fractionation of Antioxidants and GC-MS and ESI-MS Fingerprints of *Celastrus hindsii* Leaves. Medicines 6(2) (2019) 64.
- [14] T.N. Ly, M. Shimoyamada, Yamauchi RJJoa, chemistry f. Isolation and characterization of rosmarinic acid oligomers in *Celastrus hindsii* Benth leaves and their antioxidative activity 54(11) (2006) 3786.