

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ CHẾ PHẨM CHỐNG OXI HÓA TỪ RỄ THỎ PHỤC LINH (*SMILAX GLABRA* ROXB.) CỦA VIỆT NAM

Trịnh Thị Thanh Vân, Vũ Văn Chiến, Phạm Thị Hằng, Phạm Văn Cường, Nguyễn Quốc Vượng*

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đề tài Tòa soạn 7-2-2015; Chấp nhận đăng 01-3-2015

Abstract

An antioxidant functional food from the root of *Smilax glabra* Roxb. of Vietnam (TPL-As40) was prepared, by using the purified EtOH extract which contains high astilbin content (46.1 %) as determined by HPLC analysis. The antioxidant activity of this functional food was evaluated by different methods: DPPH assay for free radical scavenging capacity, MDA assay for inhibition of lipid peroxidation and MTT assay for hepatoprotective effect on H_2O_2 -injured mouse hepatocytes. Accordingly, the TPL-As40 had significant antioxidant property with SC_{50} value of 19.8 $\mu\text{g/ml}$ (DPPH assay), IC_{50} value of 9.32 $\mu\text{g/ml}$ (MDA assay) and EC_{50} value of 20.95 $\mu\text{g/ml}$ (MTT assay). The toxicity evaluation in mice indicated that the TPL-As40 product was safe for use as functional food according to OECD

Keywords. *Smilax glabra* Roxb., astilbin, antioxidant activity, functional food.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loại oxi hoạt động (Reactive Oxygen Species, ROS) bao gồm các gốc tự do và các phân tử chứa oxy có hoạt tính oxi hóa cao như OH^\cdot , OO^\cdot , HOO^\cdot , H_2O_2 , 1O_2 , $HOCl$... có hoạt tính oxi hóa rất cao luôn có xu hướng tấn công mạnh các phân tử hữu cơ. Mục tiêu tấn công của ROS là các phân tử lipid, protein, DNA, RNA hay các phân tử đường gây ra stress oxi hóa (oxidative stress) là nguyên nhân sinh ra nhiều loại bệnh nguy hiểm như ung thư, tim, mạch, tiểu đường, gan, thận, huyết áp, viêm nhiễm, miễn dịch, béo phì, tự kỷ và lão hóa... Vì vậy để bảo vệ sức khỏe cần phải bổ sung các chất chống oxi hóa để duy trì các gốc tự do trong cơ thể ở mức thấp [1].

Thỏ phục linh (*Smilax glabra* Roxb.) hay còn được gọi là Khúc khắc, Kim cang hoặc Sarsaparilla. Thỏ phục linh (TPL) là cây thuốc truyền thống ở nước ta, chúng mọc hoang hoặc được trồng khá phổ biến ở nhiều tỉnh Miền Bắc, Miền Trung và Tây Nguyên nước ta [2]. Trên thế giới TPL cũng được sử dụng trong y dược như ở Trung Quốc, Hồng Kông, Sri Lanka, các nước Asian, Châu Phi và một số nước ở Châu Âu, trong đó TPL còn được sử dụng như thực phẩm chức năng ở Hong Kong, Trung Quốc [9]. Thành phần hóa học của rễ Thỏ phục linh và các hoạt tính sinh học của chúng đã lần lượt được công bố, trong đó lớp chất các flavonoid (astilbin là cấu tử chia khóa) được xem là các cấu tử hoạt tính chính, các kết quả nghiên cứu cho thấy thỏ phục linh có

nhều hoạt tính sinh học có giá trị như: chống ung thư, hạ đường huyết, bảo vệ gan, điều hòa miễn dịch, kháng vi khuẩn và chống oxi hóa, trong đó hoạt tính chống oxi hóa được đặc biệt quan tâm [3-9]. Thỏ phục linh có giá trị được dùng cao như vậy nhưng ở nước ta vẫn chưa được nghiên cứu nhiều, cho đến nay cũng chỉ có vài công trình công bố sơ khai về nó [10, 11]. Đề phát huy nguồn tài nguyên quý giá này, tiếp tục kết quả khảo sát ban đầu về hàm lượng cấu tử chia khóa astilbin trong rễ Thỏ phục linh Việt Nam tại các vùng miền khác nhau [12], chúng tôi báo cáo ở đây về nghiên cứu điều chế chế phẩm chống oxi hóa từ rễ Thỏ phục linh Việt Nam và đánh giá độc tính cấp của chế phẩm.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu, thiết bị và phương pháp

Rễ Thỏ phục linh của Việt Nam được mua tại Tỉnh Tuyên Quang, được giám định mẫu bởi PGS. TS. Trần Huy Thái và TS. Nguyễn Thế Cường thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật. Các dung môi chiết như etanol, etyl axetat, *n*-hexan là các dung môi công nghiệp. Các hóa chất 1,1-diphenyl-2-picryl hydryl (DPPH), malondialdehyde (MDA), dimethyl sulfoxide (DMSO), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT), thiobarbituric acid (TBA), vitamin C, curcumin (94 %), axit trichloaxetic, nước cất khử trùng, đệm phosphat pH 7,4, etanol, metanol...

được mua từ các hãng Merck, Sigma Aldrich.

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được thực hiện trên máy Agilent 1200 tại Viện Hóa sinh biển; Hoạt tính chống oxi hóa của chế phẩm được xác định tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên và Viện Công nghệ sinh học. Mật độ quang được đo trên máy đọc Elisa và Microplate Reader.

Đĩa nhựa 96 giếng (Corning, USA), pipet, máy đọc ELISA 96 giếng (Bio-rad); cân phân tích, ống Eppendorf, kim cong đầu tù dùng để cho chuột uống hoạt chất thử.

Động vật thí nghiệm: Chuột thuần chủng dòng BALB/c khoẻ mạnh, không phân biệt giống, không mắc bệnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, có khối lượng từ 22-24 g, được nuôi tại khu nuôi động vật của Viện Công nghệ sinh học trong điều kiện tiêu chuẩn. Chuột được cho ăn thức ăn tiêu chuẩn và nước uống tự do.

2.2. Điều chế chế phẩm chống oxi hóa từ rễ thỏ phục linh của Việt Nam

Mẫu rễ Thỏ phục linh khô (10 kg) được nghiền nhỏ và ngâm, chiết trong etanol 85 % ở nhiệt độ phòng trong 2 ngày. Quá trình chiết mẫu được lặp lại 4 lần (1 x 40 L + 3 x 20 L) để đảm bảo astilbin trong mẫu được chiết hầu hết (kiểm tra bằng SKLM), gộp các dịch chiết lại rồi quay cất dưới áp suất thấp loại dung môi thu được dịch cô etanol (1,7 L). Dịch cô etanol được pha thêm 1 lượng nước tương đương (1,7 L) thu được một hỗn hợp huyền phù (3,4 L). Hỗn hợp huyền phù này được chiết với với *n*-hexan (1 x 1,7 L + 3 x 0,85 L), dịch *n*-hexan được cô quay loại dung môi thu được 35 g cao chiết *n*-hexan. Phần dịch nước được chiết tiếp với etyl axetat 4 lần (1 x 1,7 L + 3 x 0,85 L) đến hết astilbin (kiểm tra trên SKLM). Dịch chiết etyl axetat được quay cất loại dung môi thu được cao chiết etyl axetat là chất rắn màu vàng nâu (470 g). Cao chiết etyl axetat được xử lý tiếp theo quy trình trong đơn đăng ký sáng chế số I-2014-03769 thu được chế phẩm chống oxi hóa TPL-As40 là chất rắn màu vàng nhạt (310 g).

Một phần của chế phẩm (5 g) đã được phân lập bằng sắc ký cột trên silicagen hệ *n*-hexan/EtOAc (2:1) sau đó được kết tinh lại qua hệ MeOH/H₂O (1/1, v/v) và qua sắc ký pha đảo thu được 1,5 g astilbin với hàm lượng 97 % (Theo phân tích HPLC của Viện Kiểm nghiệm thuốc TW) cung cấp cho các nghiên cứu về HPLC và thử hoạt tính.

2.3. Phương pháp HPLC xác định hàm lượng astilbin của chế phẩm

Hàm lượng astilbin trong các cao chiết và chế phẩm được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng

hiệu năng cao (HPLC). Sử dụng hệ Agilent 1200, cột chạy zobax eclipse XDB C₁₈ (4,6×150 mm, 5 μm). Mẫu chạy sắc ký được pha với nồng độ 5 mg/ml, lượng mẫu bơm vào cột 5μl ở nhiệt độ cột là 25 °C. Pha động ban đầu MeOH:H₂O (0,3 % axit acetic) 30/70 (v/v) tăng tỉ lệ MeOH (gradient) trong thời gian từ 0-30 phút theo chương trình như trong bảng 1 với tốc độ dòng 0,5 ml/phút.

Bảng 1: Hệ dung môi phân tích mẫu theo thời gian

Thời gian, phút	0	5	10	20	25	30
MeOH	30	30	40	50	100	100
H ₂ O (axetic a 0,3 %)	70	70	60	50	0	0

Bước sóng phân tích là 291 nm.

Đường chuẩn định lượng astilbin được xây dựng từ mối quan hệ giữa diện tích pic tại thời gian lưu là 19,1 phút với nồng độ của astilbin. Từ sắc ký đồ HPLC được chạy theo chương trình lập sẵn của các dung dịch astilbin có nồng độ khác nhau từ 78, 125–500 μg/ml thu được phương trình hồi qui tuyến tính với độ tin cậy cao ($R^2 = 0,99995$) là:

$$Y = 22642,73573 X + 48,25299$$

Trong đó: Y là diện tích pic, X là nồng độ của chất phân tích.

2.4. Các phương pháp xác định hoạt tính chống oxi hóa của chế phẩm

2.4.1. Phương pháp bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các mẫu thử được xác định theo phương pháp chung được tóm tắt như sau: Hỗn hợp dung dịch của DPPH (được hòa tan trong etanol (96 %) với các mẫu thử (được hòa tan trong DMSO ở các nồng độ khảo sát) hoặc H₂O (trong đó có chứng âm) được đưa vào đĩa 96 giếng. Độ hấp thụ của hỗn hợp đã được đo bằng máy ELISA ở 515 nm sau 10 phút. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của các mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$SC(\%) = 100 - [(OD_{thử} - OD_{trắng}) / OD_{chứng âm}] \times 100$$

Trong đó OD_{thử} là độ hấp thụ của mẫu có mặt chất thử; OD_{trắng} là hỗn hợp chỉ có các dung môi DMSO, H₂O; OD_{chứng âm} là hỗn hợp chỉ có DPPH và H₂O.

Các mẫu chất sạch được pha ở các nồng độ 12,5, 25,50 và 100 (μg/ml) còn chế phẩm và các cao chiết ở các nồng độ 25, 50, 100 và 200 (μg/ml), mỗi thực nghiệm được lặp lại 3 lần rồi lấy giá trị trung bình.

2.4.2. Phương pháp xác định khả năng ức chế peroxy hoá lipid (Phép thử MDA)

Khả năng ức chế peroxy hóa lipid (POL) của chế

phẩm TPL-As40 được xác định qua việc xác định hàm lượng malonyl dialdehyd (MDA) theo phương pháp của E.A. Makarova (1989), MDA là sản phẩm cuối cùng của quá trình POL, hợp chất phức của nó với axit thiobarbituric (TBA) có màu hồng hấp thụ cực đại ở bước sóng 532 nm. Phương pháp được miêu tả ngắn gọn như sau: Hỗn hợp đồng thể của năo chuột (được tách từ chuột nuôi thí nghiệm) trong dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (1 ml, tỉ lệ 1:10) ở nhiệt độ 0-5 °C được thêm các mẫu thử ở các nồng độ thử (0,2 ml/giếng) và đệm phosphate (0,8 ml/giếng). Sau đó, hỗn hợp mẫu thử được ủ ở 37 °C với 0,1 ml hệ Fenton (FeSO₄ 0,1 mM; H₂O₂ 15 mM theo tỉ lệ 1:1) trong 5 phút rồi được thêm axit tricloaxetic 10 % (1 ml) để kết thúc phản ứng. Hỗn hợp được li tâm lấy dịch trong và bổ sung axit thiobarbituric 0,8 % (1 ml) ở 100 °C trong 15 phút. Cuối cùng, làm lạnh các ống nghiệm và đo cường độ màu bằng máy Microplate Reader ở bước sóng 532 nm. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình.

Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của mẫu thử được xác định dựa vào sự thay đổi cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu thử theo công thức sau:

$$HTCO (\%) = \left[\frac{(OD_c - OD_r)}{OD_c} \right] \times 100$$

Trong đó OD_c là cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu chứng không có mặt chất thử; OD_r là cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu chứng có mặt chất thử.

2.4.3. Phương pháp xác định khả năng bảo vệ tế bào gan của chế phẩm khỏi tác dụng của H₂O₂ (Phép thử MTT).

Tế bào gan chuột (phân lập từ gan chuột thí nghiệm) được nuôi ổn định 1-2 ngày, sau đó được đưa vào đĩa 96 giếng với mật độ 1×10^4 tế bào/giếng, nuôi qua đêm trong tủ ẩm 5 % CO₂, ở 37 °C, hoạt chất nghiên cứu, curcumin (đối chứng dương) ở các nồng độ khác nhau được thêm vào và ủ trong 2 giờ. Sau đó thêm H₂O₂ (100 µM/giếng) vào trong 2 giờ rồi cho MTT nồng độ 1 mg/ml (150 µl/giếng) và ủ trong 4 giờ, sau đó loại bỏ dịch rồi rồi thêm DMSO 100 % (100 µl/giếng). Đo mật độ quang học (OD) bằng máy Microplate Reader ở 492 nm.

$$\text{Tế bào sống sót (\%)} = \frac{[OD_{\text{chất thử}} - OD(H_2O_2)] \times 100}{OD_{\text{tế bào}} - OD(H_2O_2)}$$

Trong đó: OD_{chất thử} là cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu đo có mặt chất thử; OD(H₂O₂) là cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu đo chỉ thêm H₂O₂; OD_{tế bào} là cường độ hấp thụ ánh sáng của mẫu đo

chỉ có mặt tế bào. Các thực nghiệm được lặp lại 3 lần lấy giá trị trung bình.

2.5. Phương pháp xác định độc tính cấp của chế phẩm chống oxy hóa TPL-As40

Độc tính cấp của chế phẩm TPL-As40 được xác định theo phương pháp của Abrahm (1978) và của Bộ Y tế Việt Nam, số: 371/BYT-QĐ ngày 12 tháng 3 năm 1996. Theo đó, 30 chuột BALB/c khỏe mạnh được chia làm 5 lô (6 chuột/lô), và bị bỏ đói hoàn toàn 16 giờ trước thử nghiệm. Chế phẩm TPL-As40 được tạo huyền phù trong nước và cho chuột ở các lô uống theo các liều sau như trong bảng 2.

Bảng 2: Liều uống ở các lô của chuột thực nghiệm

Lô	1	2	3	4	5*
TPL-As40 (mg/kgP)	7000	8000	9000	10000	Đối chứng

*Lô đối chứng uống nước cất.

Sau khi cho uống chế phẩm TPL-As40 hoặc nước cất từ 1-2 giờ, chuột được nuôi dưỡng bình thường trở lại (cho ăn, uống tự do) và theo dõi liên tục trong 72 giờ để xác định số chuột chết trong từng lô.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

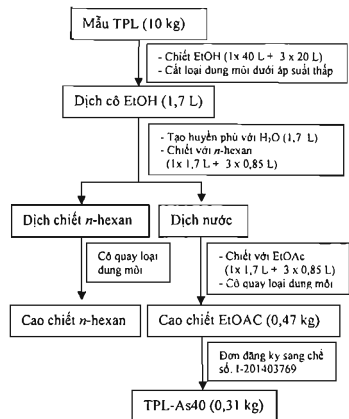
3.1. Điều chế chế phẩm chống oxy hóa

Chế phẩm chống oxy hóa từ rễ TPL được điều chế theo sơ đồ trong hình 1. Các kết quả nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết tổng EtOH và các phân đoạn chiết *n*-hexan, EtOAc của chúng tôi (bảng 2) cho thấy HTCO của phân đoạn chiết EtOAc cao hơn dịch chiết tổng và phân đoạn chiết *n*-hexan. Kết hợp với đánh giá của Zhang và cộng sự [5, 8] chúng tôi đã xây dựng quy trình điều chế chế phẩm chống oxy hóa cao TPL-As40 bao gồm các bước làm giàu hàm lượng của astilbin (được xem là cấu tử chính quyết định hoạt tính của rễ TPL) như: chiết phân đoạn dịch cô etanol của mẫu TPL với *n*-hexan để loại các chất không phân cực, dịch nước còn lại được chiết với EtOAc thu được cao chiết EtOAc với hiệu suất 4,7 % theo trọng lượng rễ TPL khô. Sau đó cao chiết EtOAc đã được làm giàu astilbin theo đơn đăng ký sáng chế số I-2014-03769 thu được chế phẩm chống oxy hóa TPL-As40 với hiệu suất 3,1 % theo trọng lượng rễ TPL khô.

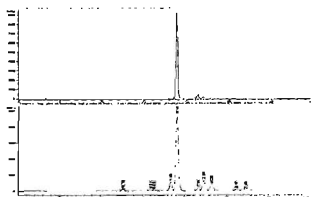
3.2. Hàm lượng của astilbin trong chế phẩm

Sắc ký dò HPLC của chế phẩm TPL-As40 và mẫu astilbin (97 %) được tiến hành ở cùng 1 điều

kiện được trình bày trong hình 2. Kết hợp phương trình chuẩn định lượng astilbin và diện tích pic tại thời gian lưu 19,1 phút có trên sắc ký đồ của chế phẩm TPL-As40 và cao chiết EtOAc cho biết hàm lượng astilbin trong chế phẩm đã được làm giàu đến 46,1 % từ cao chiết ethyl axetat (với 32,2 % astilbin).



Hình 1: Sơ đồ điều chế chế phẩm chống oxy hóa từ rễ TPL (TPL-As40)



Hình 2: Sắc ký đồ HPLC của astilbin (trên) và TPL-AS40 (dưới)

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của chế phẩm TPLAs40

Hoạt tính chống oxy hóa của chế phẩm TPL-As40 và các cao chiết (EtOH, EtOAc) đã được đánh giá qua 3 phương pháp: Phương pháp bắt gốc tự do DPPH; phương pháp MDA xác định khả năng ức

chế sự oxy hóa màng tế bào não chuột bởi hệ Fenton ($Fe^{2+} + H_2O_2$) và phương pháp bảo vệ tế bào gan chuột khỏi tác dụng của tác nhân oxy hóa H_2O_2 .

DPPH là một gốc tự do bền hấp thụ ánh sáng cực đại ở 515 nm thường được sử dụng để đánh giá khả năng chống oxy hóa của một chất. Sự có mặt của các chất chống oxy hóa đã làm thay đổi cường độ hấp thụ ánh sáng của các mẫu thử ở bước sóng khảo sát (515 nm). Từ các kết quả SC(%) thu được ở các nồng độ thử của chế phẩm TPL-As40 đã tính được giá trị SC_{50} là nồng độ chất thử ức chế được 50 % gốc tự do DPPH.

Trong phép thử oxy hóa màng tế bào, tác nhân oxy hóa là hệ Fenton đã được sử dụng nhằm cung cấp các gốc tự do hydroxyl HO^{\bullet} và HO_2^{\bullet} , các tác nhân oxy hóa mạnh này đã nhanh chóng phá hủy màng tế bào giải phóng MDA và các chất tương tự MDA (thời gian ủ là 5 phút). Các chất chống oxy hóa có trong mẫu thử đã ức chế quá trình phân hủy màng tế bào. Từ HTCO (%) thu được ở các nồng độ thử của chế phẩm TPL-As40 đã tính được giá trị IC_{50} là nồng độ chất thử ức chế được 50 % quá trình phân hủy màng tế bào.

Trong phép thử bảo vệ tế bào gan, H_2O_2 được sử dụng trực tiếp vì vậy tác nhân oxy hóa bao gồm cả H_2O_2 , O_2 và vết các gốc tự do HO^{\bullet} và HO_2^{\bullet} , phản ứng oxy hóa diễn ra chậm hơn (ủ trong 2 giờ). Sự có mặt của các chất chống oxy hóa ức chế quá trình tiêu diệt tế bào. Từ lượng tế bào sống sót (%) thu được ở các nồng độ thử của chế phẩm TPL-As40 đã tính được giá trị EC_{50} là nồng độ hiệu quả của chất thử bảo vệ được 50 % tế bào sống sót.

Các kết quả SC_{50} (Phép thử DPPH); IC_{50} (Phép thử MDA) EC_{50} (Phép thử MTT) thu được được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2: Kết quả hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu thử

Mẫu \ PP	DPPH SC_{50} , $\mu\text{g/ml}$	MDA IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$	TB gan chuột EC_{50} , $\mu\text{g/ml}$
EtOH	32,3	13,26	28,40
n-Hexan	32,53	15,60	39,73
EtOAc	24,95	9,45	23,88
TPL-As40	19,8	9,32	20,95
Astilbin	21,7	22,49	37,53
Vitamin C	10,9	-	-
Curcumin	-	2,88	17,14

Các kết quả của 3 phép thử hoạt tính chống oxy hóa trong bảng 2 đã thể hiện chế phẩm TPL-As40 có hoạt tính chống oxy hóa đáng kể và cho thấy hoạt

tính chống oxy hóa của chế phẩm TPL-As40 cao hơn hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết theo thứ tự TPL-As40 > EtOAc > EtOH > *n*-hexan. Như vậy, bước loại bỏ các hoạt chất kém phân cực sử dụng dung môi chiết *n*-hexan đã làm tăng hoạt tính chống oxy hóa của chế phẩm. Trong phép thử DPPH hoạt tính chống oxy hóa của chế phẩm (19,8 µg/ml) và của astilbin (SC₅₀ = 21,7 µg/ml) là gần tương đương nhau và thấp hơn hoạt tính chống oxy hóa của axit ascorbic (SC₅₀ = 10,9 µg/ml). Trong các phép thử MDA và bảo vệ tế bào gan, hoạt tính chống oxy hóa của chế phẩm là 9,32 và 20,95 µg/ml tương ứng cao hơn của astilbin là 22,49 và 37,53 µg/ml tương ứng, điều này được lý giải do sự phối hợp của các hoạt chất có trong chế phẩm đã làm tăng hiệu quả chống oxy hóa đối với màng tế bào và tế bào gan chuột, kết quả này cũng phù hợp với kết quả đã được báo cáo bởi Zhang và cộng sự [6].

3.4. Độc tính cấp của chế phẩm TPL-As40 trên chuột

Sau khi cho uống huyền phù của chế phẩm TPL-As40 trong nước cất hoặc nước cất với thể tích tương đương, chuột được theo dõi liên tục trong vòng 24 giờ đối với các biểu hiện chức năng, đồng thời đếm số lượng chuột chết ở từng lô trong vòng 72 giờ. Kết quả theo dõi cho thấy chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt ở tất cả các liều thử cả với liều tối đa tới 10000 mg/kgP. Theo tiêu chuẩn của tổ chức OECD hợp chất tinh khiết có nguồn gốc tự nhiên có LD₅₀ > 2000 mg/kg thể trọng thì được xem là không có độc cấp tính, vì vậy có thể đánh giá chế phẩm chống oxy hóa TPL-As40 không có độc tính cấp và an toàn cho sử dụng.

Lời cảm ơn. Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã cấp kinh phí thực hiện đề tài. Mã số đề tài VAST 04.02/13-14.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Márcio Caroch, Isabel C. F. R. Ferreira. *A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and*

- analysis methodologies and future*, Food and Chemical Toxicology, 51, 15-25 (2013).
- Võ Văn Chi, 260- *Thổ phục linh*, Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nxb. Y học, 2, 900 (2012).
- Xia D. Z., Fan Y. S., Zhang P. H., Fu Y., Ju M. T., Zhang X. S., *Protective Effects of the Flavonoid-Rich Fraction from Rhizomes of Smilax glabra Roxb. on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats*, J. Membrane Biol., 246, 479-485 (2013).
- Xu S., Shang M. Y., Liu G. X., Xu F., Wang X., Shou Ch. Ch., and Cai Sh. Q., *Chemical Constituents from the Rhizomes of Smilax glabra and Their Antimicrobial Activity*, Molecules, 18, 5265-5287 (2013).
- Zhang Q. F., Guo Y. X., Shanguan X. C., Zheng G. D., Wang W. J., *Antioxidant and anti-proliferative activity of Rhizoma Smilacis Chinae extracts and main constituents*, Food Chemistry, 133, 140-145 (2012).
- A. Vijayalakshmi, V. Ravichandiran, S. Jayakumari and Malarkodi Velraj. *Antioxidant and anticonvulsant activity of astilbin, a flavonoid glycoside from the rhizome of Smilax china Linn.*, Journal of Pharmacy Research (India), 4(3), 561-563 (2011).
- Xia D. Z., Yu X. F., Liao S. P., Shao Q. J., Mou H. L., Ma W. *Protective effect of Smilax glabra extract against lead-induced oxidative stress in rats*, Journal of Ethnopharmacology, 130, 414-420 (2010).
- Zhang Q. F., Zhang Z. R., Cheung H. Y. *Antioxidant activity of Rhizoma Smilacis Glabrae extracts and its key constituent-astilbin*, Food Chemistry, 115, 297-303 (2009).
- Zang Qing-Feng, Zhang Zhongrong, Cheung Hongyeung. *Hong Kong Pharmacological Journal*, 15(2), 68-71 (2008).
- Phạm Thị Hồng Minh, Nguyễn Quyet Tien, Trần Thị Thanh Hằng, Phạm Hữu Dien. *Tap chí Khoa học, Trường ĐHSP Hà Nội*, 55(6), 62-70 (2010).
- Nguyễn Ngọc Xuân, Đào Văn Phan, Nguyễn Duy Thuận. *Vietnam Journal of Pharmacology-Ministry of Health*, 4, 12-16 and 11, 18-21 (2000).
- Nguyễn Quốc Vượng, Vũ Văn Chiến, Nguyễn Thị Thu, Diệp Thị Lan Phương, Phạm Văn Cường, Châu Văn Minh. *Khảo sát hàm lượng astilbin trong rễ cây thổ phục linh (Smilax glabra Roxb) và bản tổng hợp alphononin bằng phương pháp đồng phân hóa taxifolin*, Tạp chí Hóa học, 51(2AB), 208-213 (2013).

Liên hệ: Nguyễn Quốc Vượng

Viện Hóa sinh biển

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Số 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

E-mail: nguyenvuong@imbc.vast.vn

Điện thoại: 0973972767.