

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC  
CỦA CÂY ĐẠI BI (*Blumea balsamifera* (L.) DC.)

Lê Thị Bạch<sup>1\*</sup>, Lê Thị Thanh Xuân<sup>2</sup>, Trần Chí Linh<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Thúy Tâm<sup>1</sup>,  
Tăng Huỳnh Chi<sup>1</sup>, Lê Thị Diễm Thùy<sup>1</sup>, Trần Ngọc Phụng<sup>1</sup>, Trần Phạm Xuân Mai<sup>1</sup>,  
Hồ Tường Anh<sup>1</sup>, Bùi Thanh Long<sup>1</sup> và Nguyễn Ngọc Minh Thi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Sư phạm Khoa học Tự nhiên, Trường Sư phạm, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

<sup>3</sup>Khoa Y, Trường Đại học Nam Cần Thơ, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: Lê Thị Bạch, Email: ltbach@ctu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 16/8/2024; Ngày nhận chỉnh sửa: 02/11/2024; Ngày chấp nhận: 12/11/2024

Tóm tắt

Nghiên cứu này nhằm khảo sát bước đầu về hoạt tính kháng oxi hóa và kháng khuẩn của cao chiết từ thân và lá cây Đại bi (*Blumea balsamifera* (L.) DC.), nhằm chọn ra cao chiết hiệu quả nhất để phân tích thành phần hóa học. Kết quả cho thấy cao chiết ethyl acetate có khả năng kháng oxi hóa mạnh, với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 96,45  $\mu\text{g/mL}$  (DPPH) và 58,36  $\mu\text{g/mL}$  (ABTS), cùng với khả năng kháng khuẩn tốt đối với *Vibrio sp.* và *Aeromonas caviae*, hai tác nhân gây bệnh chủ yếu cho động vật thủy sản, đặc biệt kháng mạnh đối với chủng *Aeromonas caviae* với đường kính vòng vô khuẩn đạt  $25,76 \pm 0,26$  mm ở nồng độ 128  $\mu\text{g/mL}$ . Kết quả khảo sát thành phần hóa học của cao chiết ethyl acetate đã xác định ba hợp chất: luteolin, (+)-catechin, và oleanolic acid bằng phương pháp phổ NMR và so sánh với các tài liệu đã công bố. Những kết quả này khẳng định tiềm năng dược liệu của cây Đại bi với hoạt tính sinh học hiệu quả.

**Từ khóa:** Đại bi, kháng oxi hóa, kháng khuẩn, thành phần hóa học.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.14.2.2025.1434>

Trích dẫn: Lê, T. B., Lê, T. T. X., Trần, C. L., Nguyễn, T. T. T., Tăng, H. C., Lê, T. D. T., Trần, N. P., Trần, P. X. M., Hồ, T. A., Bùi, T. L., & Nguyễn, N. M. T. (2025). Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây đại bi (*Blumea balsamifera* (L.) DC.). *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 14(2), 31-39. <https://doi.org/10.52714/dthu.14.2.2025.1434>  
Copyright © 2025 The author(s). This work is licensed under a CC BY-NC 4.0 License.

**STUDY ON CHEMICAL COMPOSITION AND BIOACTIVITIES  
OF *Blumea balsamifera* (L.) DC.**

**Le Thi Bach<sup>1\*</sup>, Le Thi Thanh Xuan<sup>2</sup>, Tran Chi Linh<sup>3</sup>, Nguyen Thi Thuy Tam<sup>1</sup>,  
Tang Huynh Chi<sup>1</sup>, Le Thi Diem Thuy<sup>1</sup>, Tran Ngoc Phung<sup>1</sup>, Tran Phạm Xuan Mai<sup>1</sup>,  
Ho Tuong Anh<sup>1</sup>, Bui Thanh Long<sup>1</sup>, and Nguyen Ngoc Minh Thi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Can Tho University, Vietnam*

<sup>2</sup>*Faculty of Natural Sciences Teacher Education, School of Education,  
Dong Thap University, Cao Lanh 870000, Vietnam*

<sup>3</sup>*Faculty of Medicine, Nam Can Tho University, Vietnam*

*\*Corresponding author: Le Thi Bach, Email: ltbach@ctu.edu.vn*

**Article history**

*Received: 16/8/2024; Received in revised form: 02/11/2024; Accepted: 12/11/2024*

**Abstract**

*This study evaluated the antioxidant and antibacterial activities of crude ethanol, n-hexane, and ethyl acetate extracts from *Blumea balsamifera* (L.) DC. Antioxidant capacity was assessed using DPPH and ABTS radical scavenging assays, while antibacterial activity was determined via the agar well diffusion method. The ethyl acetate extract demonstrated significant antioxidance, with IC<sub>50</sub> values of 96.45 µg/mL and 58.36 µg/mL for DPPH and ABTS assays, respectively. The highest antibacterial was observed against *Aeromonas caviae*, where the ethyl acetate extract produced the largest inhibition zone (25.76±0.26 mm) at a concentration of 128 µg/mL. Chemical analysis of the leaves and stems from the ethyl acetate extract of *Blumea balsamifera* (L.) DC identified three compounds: luteolin (1), (+)-catechin (2), and oleanolic acid (3), confirmed by NMR spectroscopy and comparison with existing literature. These findings suggest that *Blumea balsamifera* is a promising medicinal plant with good biological activities.*

**Keywords:** *antioxidant activity, antibacterial activity, *Blumea balsamifera* (L.) DC., chemical composition.*

## 1. Giới thiệu

Trong những năm gần đây, việc tìm kiếm các hợp chất kháng oxy hóa tự nhiên đã trở thành một hướng nghiên cứu được đặc biệt chú trọng. Đồng thời, sự phát triển mạnh mẽ của ngành thủy sản tại Việt Nam đã kéo theo sự gia tăng các bệnh nhiễm khuẩn. Các phác đồ điều trị hiện nay chủ yếu dựa vào kháng sinh, dẫn đến sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh và đa kháng sinh. Điều này tạo ra nhu cầu cấp thiết về việc sử dụng các loại thuốc có nguồn gốc tự nhiên, một xu hướng đang thu hút sự quan tâm lớn từ cộng đồng khoa học.

Cây đại bi, với tên khoa học là *Blumea balsamifera* (L.) DC, thuộc họ Cúc (Asteraceae), là một trong những loài thực vật được quan tâm nghiên cứu. Cây này phân bố rộng rãi ở các nước như Việt Nam, Trung Quốc, và khu vực nhiệt đới Nam Á, bao gồm Ấn Độ, Malaysia, Indonesia, và Philippines. Tại Việt Nam, cây được tìm thấy từ Bắc vào Nam (Đỗ, 2004). Trong y học cổ truyền, lá cây đại bi được sử dụng để chữa ho, trừ đờm, giảm đầy hơi, khó tiêu, và đau bụng. Ngoài ra, cây còn được dùng kết hợp với các loại thảo dược khác để xông chữa cảm sốt và cảm cúm (Võ, 2012; Đỗ, 2004)

Nghiên cứu dược lý đã chỉ ra rằng cây đại bi có tác dụng kháng khuẩn, chống viêm, gây độc tế bào ung thư, bảo vệ gan, và kháng oxy hóa. Thành phần hóa học của cây bao gồm các nhóm hợp chất như flavonoid, terpene, và phenol (Pang & cs., 2014). Tuy nhiên, tại Việt Nam, nghiên cứu về hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn cũng như thành phần hóa học của cây đại bi vẫn còn hạn chế. Do đó, kết quả của nghiên cứu này sẽ đóng góp vào việc cung cấp thêm dữ liệu về nguồn thảo dược tự nhiên tại Việt Nam, đồng thời tạo nền tảng khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Hóa chất và thiết bị

Phổ NMR được ghi lại bằng máy cộng hưởng từ nhân Bruker Avance 600 MHz, được thực hiện tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Hóa chất sử dụng cho nghiên cứu này gồm có: *n*-hexane, ethyl acetate, methanol và ethanol 96% (Chemsol, Vietnam). Silica gel cỡ 60 (Merck, Đức) dùng cho sắc ký cột; TLC F<sub>254</sub> (0.063–0.200mm, Merck, Đức) sử dụng cho sắc ký lớp mỏng.

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu kháng oxy hóa: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Merck), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethyl benzo-thiazolone-6-sulfonate) (Merck), Vitamin C (Trung Quốc), Trolox (Trung Quốc).

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu kháng khuẩn bao gồm: Tủ cấy (Class II BSC, Esco, Indonesia), nồi hấp khử trùng autoclave (HVE-50, Hirayama, Nhật), máy ly

tâm (Mikro 12-24, Hettich, Đức), máy vortex (ZX3, Velp, Ý), máy cô quay chân không (Heidolph, Đức).

### 2.2 Đối tượng nghiên cứu và chuẩn bị nguyên vật liệu

Thân và lá cây đại bi được thu hái tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang, Việt Nam, và được định danh bởi TS. Nguyễn Thị Kim Huệ. Mẫu vật sau đó được lưu trữ tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Nguyên liệu tươi sau khi thu hái được xử lý và sấy khô ở nhiệt độ 50°C. Sau khi hoàn tất quá trình sấy, nguyên liệu được nghiền nhuyễn và bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Độ ẩm của dược liệu được xác định là 8,65±1,13%, theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017).

Bột nguyên liệu (4,0 Kg) được ngâm trong dung môi ethanol 96% trong 24 giờ. Sau khi ngâm, dịch chiết được cô đặc bằng phương pháp cô quay dưới áp suất kém, thu được 420 g cao tổng ethanol từ cây đại bi. Cao tổng này sau đó được chiết lỏng-lỏng sử dụng các dung môi có độ phân cực tăng dần: *n*-hexane, ethyl acetate, và methanol. Dịch chiết từ từng dung môi được cô quay để loại bỏ dung môi dưới áp suất kém, thu được 110 g, 65 g, và 80 g cao phân đoạn tương ứng.

### 2.3 Thử nghiệm khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro*

#### 2.3.1. Phương pháp trung hòa gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Thử nghiệm kháng oxy hóa sử dụng gốc tự do DPPH được tiến hành theo phương pháp của Sharma & cs. (2009) có thay đổi. Thử nghiệm được thực hiện bằng cách pha 100 µL dung dịch DPPH gốc với 900 µL dung dịch cao chiết pha trong methanol, sao cho nồng độ DPPH tại thời điểm phản ứng là 100 µM và nồng độ cao chiết dao động từ 0-500 µg/mL. Sau khi thêm dung dịch DPPH vào mẫu, hỗn hợp được lắc đều và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, mật độ quang của dung dịch được đo ở bước sóng 517 nm. Vitamin C được sử dụng làm đối chứng dương trong thử nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị IC<sub>50</sub> µg/mL (Sharma & Bhat, 2009).

#### 2.3.2. Phương pháp trung hòa gốc tự do 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>•+</sup>)

Thử nghiệm kháng oxy hóa sử dụng gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> được tiến hành theo phương pháp của Nenadis & cs. (2004). Khi chất kháng oxy hóa được thêm vào dung dịch chứa ABTS<sup>•+</sup>, chúng sẽ khử ion ABTS<sup>•+</sup> thành ABTS làm giảm màu xanh của dung dịch. Dung dịch gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> được chuẩn bị bằng cách phối trộn dung dịch ABTS nồng độ 7 mM với dung dịch K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> nồng độ 2,45 mM, với thể tích bằng nhau, và ủ trong bóng tối trong 16 giờ. Sau đó, dung dịch được pha loãng bằng ethanol và

điều chỉnh độ hấp thu ở bước sóng 734 nm đến  $0,70 \pm 0,05$ . Dung dịch này được sử dụng cho thử nghiệm.

Thử nghiệm được tiến hành bằng cách thêm 10  $\mu\text{L}$  mẫu thử vào 990  $\mu\text{L}$  dung dịch gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> và ủ ở nhiệt độ phòng (khoảng 30°C) trong 6 phút. Độ hấp thu của dung dịch được đo ở bước sóng 734 nm. Trolox được sử dụng làm đối chứng dương với nồng độ cuối cùng từ 0-15  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Thử nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được biểu diễn dưới dạng giá trị IC<sub>50</sub>  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Nenadis & cs., 2004).

## 2.4 Thử nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết từ *Blumea balsamifera* được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch dựa trên khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn. Các khuẩn được chọn cho khảo nghiệm này là *Vibrio sp.* và *Aeromonas caviae* là các khuẩn gây bệnh chủ yếu cho động vật thủy sản.

Chuẩn bị cao chiết: cao chiết được pha với dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO) 10% thành các nồng độ 8, 16, 32, 64, 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Dịch nuôi vi khuẩn được pha loãng trong nước muối sinh lý để đạt mật độ quang tại bước sóng 600 nm là 0,5, trải đều 100  $\mu\text{L}$  lên môi trường Luria-Bertani Agar. Đĩa thạch được để khô 15 phút trước khi tạo các giếng thạch có đường kính 7 mm.

Cao chiết ở các nồng độ khảo sát khác nhau (50  $\mu\text{L}$ ) được nhỏ vào các giếng thạch. Kháng sinh ampicillin được sử dụng như đối chứng dương. Ngoài ra, do sử dụng DMSO 10% để pha cao chiết nên ảnh hưởng của DMSO 10% lên sự phát triển của vi khuẩn cũng được khảo sát. Các đĩa thạch được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Đường kính vùng ức chế được đo bằng thước đo đơn vị mm (Yeo & cs., 2014).

## 2.5 Phân lập các hợp chất

Trong nghiên cứu này, cao phân đoạn ethyl acetate (85 g) là cao cho hoạt tính kháng oxi hóa và kháng khuẩn hiệu quả nhất trong các cao khảo sát, đã được lựa chọn để khảo sát thành phần hóa học. Quá trình tách cao phân đoạn này được thực hiện thông qua sắc ký cột nhanh khô, sử dụng hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate (tỷ lệ từ 3:1 đến 0:100, v/v), tiếp tục với hệ dung môi ethyl acetate: methanol (tỷ lệ từ 5:1 đến 0:100, v/v), kết quả cho 7 phân đoạn được ký hiệu là **EAF1-7**. Phân đoạn **EAF1.2** (1.6 g) được tiếp tục tiến hành sắc ký cột bằng hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate (tỷ lệ từ 40:1 đến 0:100, v/v) thu được 4 phân đoạn nhỏ, ký hiệu **EAF1.2.1-4**. Sắc ký cột phân đoạn **EAF1.2.2** (220 mg) thu được hợp chất **1** (7 mg) và hợp chất **2** (15 mg). Quá trình tương tự đã được áp dụng cho phân đoạn **EAF1.3** (3.5 g), được chia thành 4 phân đoạn nhỏ bằng silica gel, rửa giải bằng CHCl<sub>3</sub>: MeOH (tỷ lệ từ 40:1 đến 0:100, v/v). Phân đoạn **EAF1.3.3** (188 mg)

đã được tinh chế thông qua nhiều bước sắc ký cột silica gel để thu được hợp chất **3** (10 mg).

## 2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16.2 (Statgraphics Technologies, Inc., Hoa Kỳ) và phần mềm Excel 365 (Microsoft Corporation, USA). Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để kết luận về sự sai biệt giữa trung bình các nghiệm thức ở mức độ ý nghĩa  $p < 0,05$ .

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng oxi hóa *in vitro*

Hoạt tính kháng oxi hóa *in vitro* của các cao chiết Đại bi được đánh giá bằng hai phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH và ABTS<sup>•+</sup>. Theo kết quả thể hiện ở Bảng 1 ta thấy, hoạt tính kháng oxi hóa của các cao chiết thân và lá cây Đại bi trong cả 2 phương pháp khá tương đồng nhau theo thứ tự: cao ethyl acetate > cao tổng ethanol > cao *n*-hexane. Trong cả 2 phương pháp, cao ethyl acetate đều thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa tốt nhất trong các cao khảo sát với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 96,45  $\mu\text{g}/\text{mL}$  và 58,36  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tương ứng với hai phương pháp DPPH và ABTS<sup>•+</sup>. Đối chiếu với đối chứng dương là vitamin C và trolox, tuy giá trị IC<sub>50</sub> của cao ethyl acetate cao hơn nhưng đã thể hiện hoạt tính tốt. Vitamin C và trolox là các hợp chất có độ tinh sạch cao, được biết đến với khả năng kháng oxi hóa mạnh do đó hiệu quả ức chế gốc tự do cao hơn so với các cao chiết.

**Bảng 1. Kết quả hoạt tính kháng oxi hóa của các cao chiết Đại bi**

| Cao chiết               | IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) |                |
|-------------------------|--|----------------|
|                         | DPPH   | ABTS           |
| Cao tổng                | 124,36 ± 9,10                                | 75,55 ± 8,65   |
| Cao <i>n</i> -hexane    | 195,46 ± 14,22                               | 155,08 ± 12,45 |
| Cao ethyl acetate       | 96,45 ± 8,56                                 | 58,36 ± 4,23   |
| <b>Positive Control</b> |  |                |
| Vitamin C               | 4,35 ± 0,65                                  |                |
| Trolox                  | 3,17 ± 0,17                                  |                |

Năm 2005, Shyur và các cộng sự đã chỉ ra rằng cao chiết methanol của cây Đại bi ở Đà Loan có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH với giá trị IC<sub>50</sub> là 74  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Shyur & cs., 2005). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các hợp chất thuộc nhóm polyphenol và flavonoid có hoạt tính sinh học cao, đặc biệt là khả năng kháng oxi hóa và kháng khuẩn. Khả năng oxi hóa khử cho phép các hợp chất polyphenol hoạt động như một chất khử cung cấp hydro và dập tắt các gốc oxi tự do (Chang &

cs., 2001). Flavonoids là một nhóm các hợp chất có trong thực vật, cho thấy hoạt tính kháng oxi hoá thông qua quá trình thu nhặt hoặc khử gốc tự do (Baharfar & cs., 2015). Xu hướng nghiên cứu gốc tự do và các chất kháng oxi hóa ngày càng được chú trọng trong lĩnh vực y, được nhằm phát hiện những chất kháng oxi hóa mang lại những tác dụng tốt có lợi cho sức khỏe con người, trong đó chất kháng oxi hóa có nguồn gốc thiên nhiên hiện nay được nhiều quốc gia, nhiều nhà khoa học quan tâm do đặc tính ít độc và ít gây ra các phản ứng phụ (Xu & cs., 2017).

### 3.2 Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Hiệu quả kháng khuẩn của các cao chiết từ cây *Blumea balsamifera* trồng tại An Giang đối với các chủng vi khuẩn *Vibrio sp.* và *Aeromonas caviae* được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy, hầu hết các cao chiết từ *B. balsamifera* đều có khả năng ức chế cả hai dòng vi khuẩn, nhưng hiệu quả rõ rệt chỉ bắt đầu xuất hiện ở nồng độ 128 µg/mL. Đường kính vòng kháng khuẩn tỉ lệ thuận với nồng độ cao chiết, nghĩa là khả năng kháng khuẩn tăng lên khi nồng độ cao chiết tăng. Cụ thể, tại nồng độ 128 µg/mL, cao chiết ethyl acetate từ cây đại bi trồng ở An Giang cho thấy khả năng kháng khuẩn *Aeromonas caviae* mạnh nhất ( $p < 0,05$ ) và hiệu quả kháng *Aeromonas caviae* tốt hơn so với *Vibrio sp.*.

**Bảng 2. Khả năng kháng khuẩn của các cao chiết cây Đại bi**

| Cao chiết                 |                         | Đường kính vòng kháng khuẩn $d \pm SE$ (mm) ở các nồng độ khác nhau |                        |                         |                         |                         |
|---------------------------|-------------------------|---|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Nồng độ cao chiết (µg/mL) |                         | 8   | 16                     | 32                      | 64                      | 128                     |
| Cao tổng                  | <i>Vibrio sp.</i>       | -   | -                      | 8,70±0,30 <sub>c</sub>  | 14,90±0,23 <sub>b</sub> | 21,30±0,20 <sub>a</sub> |
|                           | <i>Aeromonas caviae</i> | -   | -                      | -                       | 10,13±0,20 <sub>b</sub> | 21,63±0,63 <sub>a</sub> |
| Cao <i>n</i> -hexane      | <i>Vibrio sp.</i>       | -   | -                      | 11,90±0,5 <sub>6c</sub> | 13,10±0,23 <sub>b</sub> | 16,53±0,13 <sub>a</sub> |
|                           | <i>Aeromonas caviae</i> | -   | -                      | -                       | 8,86 ±0,13 <sup>b</sup> | 15,50±0,10 <sub>a</sub> |
| Cao ethyl acetate         | <i>Vibrio sp.</i>       | -   | 7,76±0,45 <sub>d</sub> | 10,23±0,2 <sub>5c</sub> | 17,70±0,20 <sub>b</sub> | 21,50±0,15 <sub>a</sub> |
|                           | <i>Aeromonas caviae</i> | 8,54±0,18 <sub>d</sub>  | 8,63±0,43 <sub>d</sub> | 16,56±0,5 <sub>6c</sub> | 21,10±0,33 <sub>b</sub> | 25,76±0,26 <sub>a</sub> |
| Đối chứng dương           |                         |   |                        |                         |                         |                         |
| Ampicillin (500 mg/mL)    | <i>Vibrio sp.</i>       | 28,00 ± 0,33  |                        |                         |                         |                         |
|                           | <i>Aeromonas caviae</i> | 36,56 ± 0,56  |                        |                         |                         |                         |
| Đối chứng âm              |                         |   |                        |                         |                         |                         |
| DMSO 10%                  | <i>Vibrio sp.</i>       | -   | -                      | -                       | -                       | -                       |
|                           | <i>Aeromonas caviae</i> | -   | -                      | -                       | -                       | -                       |

Note: “-” là không kháng khuẩn. Các giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn có các số khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

So sánh độ nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh cho thấy *Vibrio sp.* và *Aeromonas caviae* nhạy cảm hơn với cao chiết ethyl acetate từ cây đại bi so với kháng sinh ampicillin. Tại nồng độ 128 µg/mL, cao chiết ethyl acetate có hoạt tính ức chế rõ rệt đối với cả hai chủng vi khuẩn,

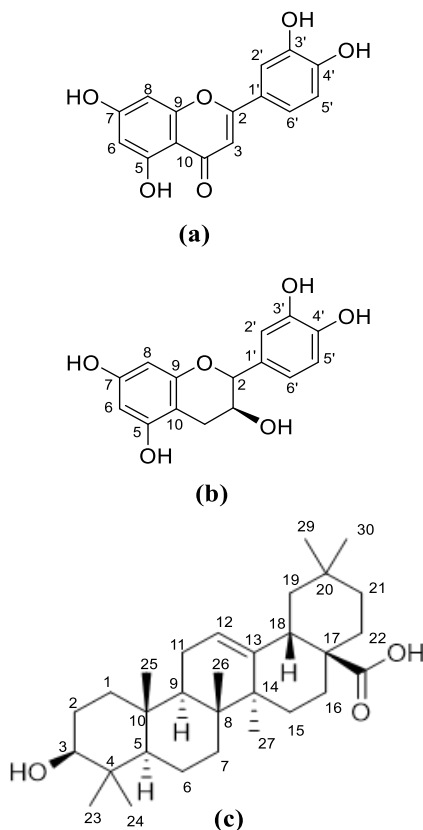
với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 21,50 ± 0,15 mm và 25,76 ± 0,26 mm. Ngược lại, ampicillin không có khả năng ức chế hai dòng vi khuẩn này ở nồng độ dưới 500 µg/mL (Hình 2).

Sự nhạy cảm của vi khuẩn đối với các phương pháp điều trị là yếu tố quan trọng trong việc xử lý bệnh nhiễm khuẩn. Kết quả nghiên cứu cho thấy hai chủng vi khuẩn khảo sát đều nhạy cảm với cao chiết ethyl acetate từ cây đại bi, chứng minh rằng các thảo dược có thể là sự thay thế tiềm năng cho kháng sinh thương mại, với ưu điểm là có thể có mức độ an toàn cao hơn.

Trong một nghiên cứu về đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của Sakee và các cộng sự, kết quả cho thấy cao chiết *n*-hexane của cây đại bi thể hiện khả năng kháng khuẩn tốt đối với *Enterobacter cloacae* và *Staphylococcus aureus* (Sakee & cs., 2011).

### 3.3 Nhận danh hợp chất

Các hợp chất sau khi được phân lập từ cao ethyl acetate của cây đại bi sẽ được định danh. Cấu trúc của các hợp chất này được trình bày ở Hình 1 đã được làm sáng tỏ bằng phương pháp phân tích dữ liệu phổ NMR, kết hợp so sánh với các dữ liệu phổ đã được công bố.



**Hình 1. Cấu trúc hóa học của ba hợp chất (1,2,3) phân lập được**

#### 3.3.1 Hợp chất 1

Hợp chất (1) thu được dưới dạng bột màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 303-305°C.

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>H</sub> (ppm): 7,37 (2H, *m*, H-2', H-6'); 6,90 (1H, *d*, *J* = 9,0 Hz, H-5'); 6,53 (1H, *s*, H-3); 6,43 (1H, *d*, *J* = 1,8 Hz, H-8); 6,20 (1H, *d*, *J* = 1,8 Hz, H-6),

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>C</sub> (ppm): 183,9 (C-4); 166,4 (C-7); 166,0 (C-2); 163,2 (C-5); 159,4 (C-9); 151,0 (C-4'); 147,0 (C-3'); 123,7 (C-1'); 120,3 (C-6'); 116,8 (C-5'); 114,2 (C-2'); 105,3 (C-10); 103,9 (C-3); 100,1 (C-6); 95,0 (C-8).

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) cho thấy sự xuất hiện của 6 proton vòng thơm phù hợp với phổ DEPT, thể hiện qua các tín hiệu đều xuất hiện ở vùng trường thấp bao gồm: hai tín hiệu mũi đơn tại δ<sub>H</sub> 6,43 (1H, *d*, *J* = 1,8 Hz, H-8) và δ<sub>H</sub> 6,20 (1H, *d*, *J* = 1,8 Hz, H-6) cho thấy vòng A có 2 proton ở vị trí *meta*. Tín hiệu mũi đơn H-3 ở δ<sub>H</sub> 6,53 (1H, *s*), các tín hiệu còn lại ở δ<sub>H</sub> [6,90 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-5'); 7,37 (2H, *m*, H-2', H-6')] chứng tỏ vòng B có hai nhóm thế ở vị trí C-3' và C-4'.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) cho thấy sự xuất hiện tín hiệu đặc trưng của hợp chất flavon bao gồm tín hiệu của 15 nguyên tử carbon, trong đó có 9 nguyên tử carbon bậc bốn và 6 nguyên tử carbon nhóm methine, tín hiệu của các nguyên tử carbon này đều xuất hiện ở vùng trường thấp (δ<sub>C</sub> > 95). Tín hiệu của 7 nguyên tử carbon olefin mang oxy: 1 carbon nhóm carbonyl ở δ<sub>C</sub> 183,9 (C-4), 6 nguyên tử carbon bậc bốn ở δ<sub>C</sub> [166,0 (C-2), 166,4 (C-7), 163,2 (C-5), 159,4 (C-9), 151,0 (C-4'), 147,0 (C-3)]; ngoài ra còn có hai nguyên tử carbon bậc bốn khác ở 123,7 (C-1') và 105,3 (C-10). Tín hiệu của 6 nhóm methine còn lại ở δ<sub>C</sub> [120,3 (C-6'), 116,8 (C-5'), 114,2 (C-2'), 103,9 (C-3), 100,1 (C-6) và 95,0 (C-8)].

Các dữ liệu phổ trên, cùng với việc so sánh tài liệu tham khảo (Lin & cs., 2015) cho phép kết luận hợp chất (1) là **3',4',5,7-tetrahydroxy flavone** (luteolin) (Hình 1a). Cùng với các hợp chất flavonoid khác, luteolin được xem là một trong những hợp chất quan trọng quyết định hoạt tính kháng oxi hóa, kháng vi sinh vật, kháng ung thư hiệu quả (M. López-Lázaro, 2009).

#### 3.3.2 Hợp chất 2

Hợp chất (2) thu được dưới dạng bột màu trắng ngà, nhiệt độ nóng chảy 175-177°C, [α]<sub>30</sub><sup>D</sup> + 25.7 (c 0.01, MeOH),

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ<sub>H</sub> (ppm): 6,86 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz, H-2'); 6,79 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-5'); 6,74 (1H, *dd*, *J* = 8,0 và 2,0 Hz, H-6'); 5,95 (1H, *d*, *J* = 2,5 Hz, H-8); 5,88 (1H, *d*, *J* = 2,5 Hz, H-6); 4,59 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-2); 4,01 (1H, *m*, H-3); 2,89 (1H, *dd*, *J* = 16,0 và 5,5 Hz, H-4a); 2,55 (1H, *dd*, *J* = 16,0 và 8,5 Hz, H-4b).

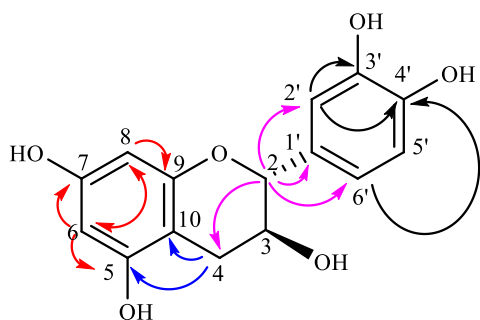
<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CD<sub>3</sub>OD), δ<sub>C</sub> (ppm): 157,8 (C-1); 157,6 (C-5); 156,9 (C-9), 146,3 (C-3'); 146,2 (C-4'); 132,3 (C-1'); 120,1 (C-6'); 116,1 (C-5'); 115,3 (C-2'); 100,9 (C-10); 96,3 (C-8); 95,5 (C-6); 82,9 (C-2); 68,8 (C-3); 28,5 (C-4).

Phổ NMR của hợp chất (2) cho thấy hợp chất này có cấu trúc dạng khung flavan-3-ol. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR (500

MHz, CD<sub>3</sub>OD) có hai tín hiệu mũi đôi của hai proton vòng thơm ghép cặp *meta* tại  $\delta_H$  5,95 (1H, *d*,  $J = 2,5$  Hz); 5,88 (1H, *d*,  $J = 2,5$  Hz) của vòng A và ba tín hiệu mũi đôi khác đặc trưng cho ba proton vòng thơm B tại vị trí 1, 3, 4 tại  $\delta_H$  6,86 [(1H, *d*,  $J_{meta} = 2,0$  Hz, H-2'); 6,79 (1H, *d*,  $J_{orto} = 8,0$  Hz, H-5')] và 6,74 (1H, *dd*,  $J_{meta}$  và  $J_{orto} = 2,0/8,0$  Hz, H-6'). Ở phía trường cao hơn xuất hiện hai tín hiệu cộng hưởng tại  $\delta_H$  4,59 (1H, *d*,  $J = 8,0$  Hz, H-2) và  $\delta_H$  4,01 (1H, *m*, H-3) đặc trưng cho hai nhóm methine mang oxy; hai tín hiệu cộng hưởng tại  $\delta_H$  [2,89 (1H, *dd*,  $J = 16,0/5,5$  Hz, H-4a); 2,55 (1H, *dd*,  $J = 16,0/8,5$  Hz, H-4b)] thể hiện sự có mặt của một nhóm methylene. Ngoài ra còn có các tín hiệu của 1 vòng benzene 4 lần thế tại 1, 2, 3, 5 ở  $\delta_H$  [5,95 (1H, *d*,  $J = 2,5$  Hz, H-8) và 5,88 (1H, *d*,  $J = 2,5$  Hz, H-6)].

Tương ứng, trên phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT của hợp chất (2) cho tín hiệu của 15 nguyên tử carbon, gồm 12 carbon của 2 vòng benzene, 2 carbon nhóm oxymethine  $\delta_C$  [82,9 (C-2) và 68,8 (C-3)] và 1 carbon methylene -CH<sub>2</sub>- tại [ $\delta_C$  28,5 (C-4)], không thấy xuất hiện nhóm carbonyl.

Trên phổ <sup>13</sup>C-NMR, proton methine ở  $\delta_H$  4,59 (1H, *d*,  $J = 8,0$  Hz) cho tương quan với 4 carbon vòng benzene gồm 2 carbon bậc ba ở  $\delta_C$  120,1 và  $\delta_C$  115,3, một carbon bậc ba mang oxy ở  $\delta_C$  157,8 và 1 carbon bậc bốn ở  $\delta_C$  132,2 chứng tỏ proton này phải là H-2, bốn carbon benzene lần lượt là C-6', C-2', C-9 và C-1'. Ngoài ra, proton H-2 còn cho tương quan HMBC với 1 carbon oxymethine ở  $\delta_C$  68,8 và một carbon methylene ở  $\delta_C$  28,5 xác nhận hai carbon này lần lượt là C-3 và C-4. Proton H-4 cho tương quan với 2 carbon bậc ba mang oxy ở  $\delta_C$  157,6 và  $\delta_C$  157,8 và một carbon bậc bốn ở  $\delta_C$  100,9 khẳng định 3 carbon này lần lượt là C-5, C-9, và C-10 (Hình 2).



Hình 2. Tương quan HMBC của hợp chất (2)

Proton ở  $\delta_H$  5,95 (1H, *d*,  $J = 2,5$  Hz) cho tương quan HMBC với C-9 chứng tỏ proton này phải là H-8. Suy ra, proton ghép *meta* với H-8 ở  $\delta_H$  5,88 (1H, *d*,  $J = 2,0$  Hz) là H-6. Proton H-6 ngoài tương quan với C-5, C-8, C-10 còn cho tương quan HMBC với 1 carbon bậc ba mang oxy ở  $\delta_C$  156,9 nên carbon này là C-7. Proton vòng benzene còn lại ở  $\delta_H$  6,79 (1H, *d*,  $J = 8,0$  Hz) ghép *ortho* với H-6' chỉ có thể là H-5'. Mặt khác, proton H-6' cho tương quan với carbon bậc ba mang oxy ở  $\delta_C$  146,3 và proton H-2' cho tương quan với carbon bậc ba mang oxy ở  $\delta_C$  146,2 trên

phổ HMBC nên các carbon này là C-4' và C-3'. Phân tích hằng số ghép cặp  $J$  của proton H-2 ở  $\delta_H$  4,59 (1H, *d*,  $J = 8,0$  Hz) và hằng số ghép cặp của H-2 và H-3 là  $^3J_{2-3} = 8,0$  Hz (ghép trực-trục), cho thấy 2 proton này phải nằm ở vị trí trực ứng với 1 trong 2 đồng phân: (+)-catechin và (-)-catechin. Mặt khác, độ quay cực của hợp chất (2) là  $[\alpha]_{30}^D + 25,7$  (c 0,01, MeOH)

Từ những dữ liệu phổ nghiệm, kết hợp với so sánh tài liệu tham khảo (Khallouki & cs., 2007) hợp chất (2) được đề nghị là (+)-catechin (Hình 1b). Hợp chất này khá phổ biến trong tự nhiên với hoạt tính kháng oxi hóa mạnh (Rajagopala & cs., 2018; Kim & cs., 2012).

### 3.3.3 Hợp chất 3

Hợp chất (3) là chất bột màu trắng, vô định hình, nhiệt độ nóng chảy 302-304°C.

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta_H$  (ppm): 5,28 (1H, *t*,  $J = 3,3$  Hz, H-12); 3,22 (1H, *dd*,  $J = 11,4$  và  $4,2$  Hz, H-3); 2,82 (1H, *dd*,  $J = 13,2$  và  $3,6$  Hz, H-18); 2,02 (1H, *ddd*,  $J = 13,2$ ;  $9,6$  và  $4,2$  Hz, H-16a); 1,90 (1H, *d*,  $J = 3,0$  Hz, H-11a); 1,86 (1H, *s*, H-11b); 1,78 (1H, *s*, H-22a); 1,72 (1H, *d*,  $J = 4,2$  Hz, H-15a); 1,69 (1H, *d*,  $J = 4,2$  Hz, H-19a); 1,62 (1H, *s*, H-16b); 1,61 (1H, *m*, H-2a); 1,61 (1H, *m*, H-1a); 1,59 (1H, *m*, H-22b); 1,56 (1H, *m*, H-2b); 1,55 (1H, *m*, H-6a); 1,55 (1H, *m*, H-6a); 1,44 (1H, *m*, H-7a); 1,38 (1H, *m*, H-6b); 1,35 (1H, *m*, H-21); 1,31 (1H, *m*, H-7b); 1,22 (1H, *m*, H-21b); 1,15 (1H, *s*, H-19); 1,13 (1H, *s*, H-15b); 1,13 (3H, *s*, H-27); 0,98 (3H, *s*, H-23); 0,97 (1H, *m*, H-1b); 0,93 (3H, *s*, H-30); 0,91 (3H, *s*, H-25); 0,90 (3H, *s*, H-29); 0,77 (3H, *s*, H-26); 0,75 (3H, *s*, H-24); 0,73 (1H, *s*, H-5).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 183,4 (C-28); 143,6 (C-13); 122,6 (C-12); 79,1 (C-3); 55,3 (C-5); 47,7 (C-9); 46,6 (C-17); 45,9 (C-19); 41,6 (C-14); 40,9 (C-18); 39,3 (C-8); 38,8 (C-4); 38,4 (C-1); 37,1 (C-10); 33,8 (C-21); 33,1 (C-29); 32,6 (C-7); 32,5 (C-22); 30,6 (C-20); 28,1 (C-23); 27,7 (C-15); 27,2 (C-2); 25,9 (C-27); 23,6 (C-30); 23,4 (C-11); 22,9 (C-16); 18,3 (C-6); 17,2 (C-26); 15,6 (C-24); 15,3 (C-25).

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất (3) cho thấy sự có mặt của 7 nhóm methyl bậc ba tại [ $\delta_H$  0,75 (*s*, 3H); 0,77 (*s*, 3H); 0,90 (*s*, 3H); 0,91 (*s*, 3H); 0,93 (*s*, 3H); 0,98 (*s*, 3H) và 1,13 (*s*, 3H)] thuộc khung triterpene oleane.

Một tín hiệu mũi ba ở  $\delta_H$  5,28 (*t*,  $J = 3,3$  Hz, 1H) đặc trưng cho proton olefine (=CH-) H-12 của khung triterpene 5 vòng.

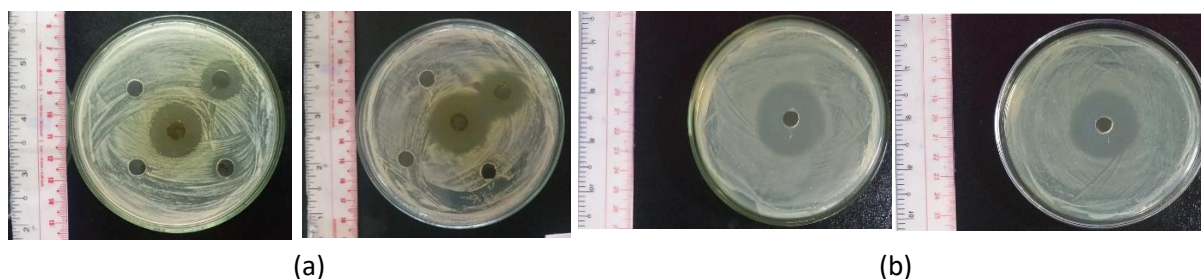
Một tín hiệu mũi đôi-đôi ở  $\delta_H$  3,22 ppm cho thấy đây là tín hiệu của proton trên carbon gắn với oxy, có thể dự đoán hợp chất có một nhóm hydroxyl (-OH) trong cấu trúc.



Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) và DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) của hợp chất (3) cho thấy sự xuất hiện của 30 tín hiệu carbon trong đó có: 7 nhóm ( $-\text{CH}_3$ ) ( $\delta_{\text{C}}$  28,1; 15,6; 15,3; 17,2; 25,9; 33,1 và 23,6 ppm), 10 nhóm ( $-\text{CH}_2$ ), 5 nhóm ( $-\text{CH}$ ) và có 8 nhóm C bậc 4. Một nhóm methine ( $-\text{CH}$ ) liên kết trực tiếp với nguyên tử oxy cộng hưởng ở  $\delta_{\text{C}}$  79,1 ppm. Tín hiệu  $\delta_{\text{C}}$  122,6 và  $\delta_{\text{C}}$  143,6 ppm khẳng định sự tồn tại của liên kết đôi giữa C-12 và C-13. Tín hiệu  $\delta_{\text{C}}$

183,4 ppm là tín hiệu của nhóm carbon carbonyl ( $-\text{C}=\text{O}$ ) và đây là tín hiệu của nhóm acid ( $-\text{COOH}$ ) trong cấu trúc.

Từ những dữ kiện thu được và đối chiếu tài liệu tham khảo (Dais & cs., 2017), kết luận hợp chất (3) là **oleanolic acid** (Hình 1c). Đây là hợp chất triterpene gặp trong nhiều loài cây thuốc và đang được chú ý về tiềm năng sử dụng trong điều trị các bệnh mãn tính (Ayeleso, Matumba, & Mukwevho, 2017) và tác dụng ức chế khối u (Liu & cs., 2013).



**Hình 3. Đường kính vòng vô khuẩn của: (a) cao chiết ethyl acetate và (b) của ampicillin 500 mg/mL đối với khuẩn *Vibrio sp.* và *Aeromonas caviae***

#### 4. Kết Luận

Nghiên cứu cho thấy cao chiết ethyl acetate từ cây đại bi thể hiện khả năng kháng oxi hóa và kháng khuẩn vượt trội nhất so với các cao chiết khác. Cụ thể, khả năng trung hòa gốc tự do DPPH và  $\text{ABTS}^{*+}$  của cao chiết ethyl acetate đạt giá trị  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là 96,45  $\mu\text{g/mL}$  và 58,36  $\mu\text{g/mL}$ . Hầu hết các cao chiết từ cây đại bi đều có hoạt tính kháng khuẩn đối với hai dòng vi khuẩn *Vibrio sp.* và *Aeromonas caviae*, trong đó cao chiết ethyl acetate cho thấy hiệu quả kháng tốt nhất ở cả hai chủng vi khuẩn so với các cao chiết tổng và cao chiết *n*-hexane. Từ đó, nghiên cứu đã phân lập được ba hợp chất trong cao phân đoạn ethyl acetate, đó là 3',4',5,7-tetrahydroxy flavone (1), (+)-catechin (2) và oleanolic acid (3). Kết quả này chứng minh rằng cây đại bi là một nguồn dược liệu tiềm năng với khả năng kháng oxi hóa và kháng khuẩn hiệu quả.

**Lời cảm ơn:** Đề tài được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ, mã số: TSV2024-24.

Các ảnh phổ của các hợp chất trong bài có thể được tham khảo [tại đây](#).

#### Tài liệu tham khảo

Ayeleso, T. B., Matumba, M. G., & Mukwevho, E. (2017). Oleanolic acid and its derivatives: biological activities and therapeutic potential in chronic diseases. *Molecules*, 22(11), 1915. <https://doi.org/10.3390/molecules22111915>

Baharfar, R., Azimi, R., & Mohseni, M. (2015). Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-, polyphenol- and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial

parts. *Journal of food science and technology*, 52, 6777-6783. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1752-0>

Bộ Y Tế. (2017). Dược điển Việt Nam V.

Chang, S. T., Wu, J. H., Wang, S. Y., Kang, P. L., Yang, N. S., & Shyr, L. F. (2001). Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3420-3424. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0100907>

Dais, P., Plessel, R., Williamson, K., & Hatzakis, E. (2017). Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR assignment and  $^{31}\text{P}$  NMR determination of pentacyclic triterpenic acids. *Analytical Methods*, 9(6), 949-957. <https://doi.org/10.1039/C6AY02565J>

Đỗ, T. L. (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 605-607.

Khallouki, F., Haubner, R., Hull, W. E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., & Owen, R. W. (2007). Isolation, purification and identification of ellagic acid derivatives, catechins, and procyanidins from the root bark of *Anisophyllea dichostyla* R. Br. *Food and Chemical Toxicology*, 45(3), 472-485. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.09.011>

Kim, J. E., Kim, S. S., Hyun, C. G., & Lee, N. H. (2012). Antioxidative chemical constituents from the stems of *Cleyera japonica* Thunberg. *International Journal of Pharmacology*, 8(5), 410-415. <https://doi.org/10.3923/ijp.2012.410.415>

Lin, L. C., Pai, Y. F., & Tsai, T. H. (2015). Isolation of Luteolin and Luteolin-7-O-glucoside from



- Dendranthema morifolium Ramat Tzvel and their pharmacokinetics in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(35), 7700-7706. <https://doi.org/10.1021/jf505848z>
- Liu, Q., Liu, H., Zhang, L., Guo, T., Wang, P., Geng, M., & Li, Y. (2013). Synthesis and antitumor activities of naturally occurring oleanolic acid triterpenoid saponins and their derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.016>
- López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(1), 31-59. <https://doi.org/10.2174/138955709787001712>
- Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M., & Zhang, H.-Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4669-4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>
- Pang, Y., Wang, D., Fan, Z., Chen, X., Yu, F., Hu, X., Wang, K., & Yuan, L. (2014). *Blumea balsamifera* - A phytochemical and pharmacological review. *Molecules*, 19(7), 9453-9477. <https://doi.org/10.3390/molecules19079453>
- Rajagopala, M., Bradshawb, T. D., Jinc, K. T., & Wiartc, C. (2018). Anticancer constituents from *Canarium patentinervium* Miq., *Asian Journal of Pharmacognosy*, 2(1), 13-20.
- Shyur, L. F., Tsung, J. H., Chen, J. H., Chiu, C. Y., & Lo, C. P. (2005). Antioxidant properties of extracts from medicinal plants popularly used in Taiwan. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(3), 195-202.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>
- Võ, V. C. (2012). Từ điển cây thuốc Việt Nam, tập 1, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 856- 857.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ... & Li, H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>
- Yeo, Y. L., Chia, Y. Y., Lee, C. H., Sow, H. S., & Yap, W. S. (2014). Effectiveness of maceration periods with different extraction solvents on in-vitro antimicrobial activity from fruit of *Momordica charantia* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(10), 016-023. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.401004>
- Sakee, U., Maneerat, S., Cushnie, T. T., & De-Eknamkul, W. (2011). Antimicrobial activity of *Blumea balsamifera* (Lin.) DC. extracts and essential oil. *Natural Product Research*, 25(19), 1849-1856. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.485573>