



DOI:10.22144/ctujos.2025.112

## HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HOÁ, KHÁNG UNG THƯ, KHÁNG VIÊM VÀ ỨC CHẾ ENZYME $\alpha$ -GLUCOSIDASE CỦA CAO CHIẾT METHANOL TỪ LÁ DÈ ANH (*Castanopsis piriformis* (Hickel & A.Camus)) THU TẠI LÂM ĐỒNG

Hoàng Thị Bình\*, Huỳnh Thị Hương Trâm và Nguyễn Văn Ngọc

Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): binhht@dlu.edu.vn

### Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 18/01/2025

Sửa bài (Revised): 13/02/2025

Duyệt đăng (Accepted): 18/05/2025

**Title:** Anti-oxidant, anti-cancer, anti-inflammatory activities, and  $\alpha$ -glucosidase inhibition of methanolic extract from leaves of *Castanopsis piriformis* (Hickel & A.Camus) collected in Lam Dong

**Author:** Hoang Thi Binh\*, Huynh Thi Huong Tram and Nguyen Van Ngoc

**Affiliation(s):** Faculty of Biology, Dalat University, Viet Nam

### TÓM TẮT

Dẻ anh (*Castanopsis piriformis* (Hickel & A.Camus)) được tìm thấy tại Việt Nam, Lào và Campuchia, với phân bố ở Việt Nam chủ yếu tại khu vực Tây Nguyên và một số tỉnh miền Nam. Trong nghiên cứu này, lần đầu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết methanol lá dẻ anh phân bố tại Việt Nam được khảo sát. Kết quả định tính cho thấy cao chiết methanol từ lá chứa flavonoid, antraglycoside, glycoside, đường khử, tannin, sesquiterpen lacton, coumarin và terpenoid-steroid. Về hoạt tính sinh học, cao chiết thể hiện khả năng kháng oxy hóa vừa phải ( $EC_{50} = 78,22 \pm 7,50 \mu\text{g/mL}$ ), kháng ung thư trên bốn dòng tế bào (KB, HepG2, A549, MCF-7) với  $IC_{50}$  từ  $32,86 \pm 1,83$  đến  $46,17 \pm 1,94 \mu\text{g/mL}$ , và kháng viêm tốt ( $IC_{50} = 52,65 \pm 4,17 \mu\text{g/mL}$ ). Đặc biệt, cao chiết ức chế mạnh enzyme  $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50} = 0,57 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ), vượt trội so với đối chứng dương acarbose ( $IC_{50} = 198,50 \pm 6,25 \mu\text{g/mL}$ ), điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị tiểu đường. Kết quả nghiên cứu này giúp chứng minh tiềm năng của lá dẻ anh trong y học và thực phẩm nhờ các hoạt tính kháng oxy hóa, kháng ung thư, kháng viêm và ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

**Từ khóa:** *Castanopsis piriformis*, kháng ung thư, kháng oxy hóa, kháng viêm,  $\alpha$ -glucosidase

### ABSTRACT

*Castanopsis piriformis* (Hickel & A. Camus) is recorded in Vietnam, Laos, and Cambodia. Its distribution in Vietnam is mainly concentrated in the Central Highlands and some southern provinces. This study is the first to investigate the chemical composition and biological activity of the methanol extract from *Castanopsis piriformis* leaves. Qualitative analysis revealed that the methanol extract of the leaves contains flavonoids, anthraglycosides, glycosides, reducing sugars, tannins, sesquiterpene lactones, coumarins, and terpenoid-steroids. Regarding biological activity, the extract exhibited moderate antioxidant activity ( $EC_{50} = 78,22 \pm 7,50 \mu\text{g/mL}$ ), anticancer activity against four cell lines (KB, HepG2, A549, and MCF-7) with  $IC_{50}$  values ranging from  $32,86 \pm 1,83$  to  $46,17 \pm 1,94 \mu\text{g/mL}$ , and significant anti-inflammatory activity ( $IC_{50} = 52,65 \pm 4,17 \mu\text{g/mL}$ ). Notably, the extract strongly inhibited the  $\alpha$ -glucosidase enzyme ( $IC_{50} = 0,57 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ), surpassing the positive control, acarbose ( $IC_{50} = 198,50 \pm 6,25 \mu\text{g/mL}$ ) (demonstrating potential for use in diabetes treatment.). This study highlights *Castanopsis piriformis* leaves' medicinal and food application potential due to their antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory properties.

**Keywords:** Anti-cancer activity, anti-inflammatory activity, anti-oxidant activity, *Castanopsis piriformis*,  $\alpha$ -glucosidase

## 1. GIỚI THIỆU

Chi *Castanopsis* thuộc họ Fagaceae có nguồn gốc từ châu Á, với khoảng 120 loài phân bố ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trong các khu rừng thường xanh tại Đông Nam Á (Huang et al., 2017; Yang et al., 2024). Việt Nam ghi nhận 54 loài phân bố trải từ Bắc vào Nam là loài ưu thế trong rừng thường xanh nhiệt đới và rừng lá rộng thường xanh ẩm ở độ cao dưới 2300 m (Vuong & Xia, 2014).

Các loài thuộc chi *Castanopsis* từ lâu đã được biết đến là những loài cho gỗ với nhiều đặc tính tốt như gỗ bền, ít hư hại, là nguyên liệu cho ngành công nghiệp gỗ và sản xuất nội thất (Huang et al., 2012). Bên cạnh đó, nhiều loài *Castanopsis* có dược tính quan trọng và là thành phần trong nhiều bài thuốc dân gian của người dân châu Á đặc biệt là Trung Quốc (Yang et al., 2024). Theo kinh nghiệm dân gian tại Trung Quốc, bắc Sumatra, Indonesia và nhiều khu vực khác đã sử dụng những loài *Castanopsis* trong điều trị các bệnh như tiêu chảy, xuất huyết (Yang et al., 2024).

Việc nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Castanopsis* đã bắt đầu từ khá sớm. Điển hình là Arthur et al. (1969) đã phân tích và tìm thấy 35 hợp chất khác nhau trong lá của sáu loài *Castanopsis* thu thập tại Hồng Kông, bao gồm *C. concinna*, *C. cuspidata*, *C. eyrei*, *C. fabri*, *C. fissa* và *C. hickelii*. Số nghiên cứu về thành phần hóa học của chi *Castanopsis* đã tăng lên đáng kể kể từ những nghiên cứu ban đầu được thực hiện. Tại Việt Nam, Minh et al. (2016) đã tiến hành phân tích thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài *C. phuthoensis* và *C. grandicatricata*. Các hợp chất chính được ghi nhận trong phần lớn các loài *Castanopsis* bao gồm polyphenol, flavonoid và triterpenoid (Gao et al., 2020). Bên cạnh thành phần hóa học phong phú, kết quả ở các nghiên cứu trước đây còn chỉ ra rằng chi *Castanopsis* sở hữu một loạt các hoạt tính sinh học có giá trị, bao gồm khả năng chống oxy hóa, kháng ung thư, kháng viêm, chống tiểu đường, kháng khuẩn, cũng như khả năng ức chế enzyme acetylcholinesterase và monoamine oxidase-B (Ilyas et al., 2023; Muni et al., 2024; Yang et al., 2024).

Loài dê anh (*Castanopsis piriformis* (Hickel & A.Camus)) phân bố tự nhiên ở Việt Nam, Lào và Campuchia (Nguyen, 2003). Cây trưởng thành có thể đạt chiều cao 25 m và đường kính thân 60 m, chủ yếu được tìm thấy ở Tây Nguyên và một số tỉnh phía nam Việt Nam (Nguyen et al., 2016). Dê anh có hai mùa ra hạt: mùa chính vào tháng 9 - 10 và mùa phụ

vào tháng 5 - 6 (Dong et al., 2007). Hạt của loài này đã được đánh giá về thành phần dinh dưỡng và cho thấy giá trị dinh dưỡng tương đối cao, có tiềm năng thương mại lớn (Nguyen et al., 2016). Kết quả so sánh với các loài *Castanopsis* khác cho thấy hàm lượng lipid trong hạt *C. piriformis* (0,1%) thấp hơn đáng kể so với *C. pseudoserrata* (0,9%), *C. boisii* (0,8%) và *C. chinensis* (0,3%). Ngược lại, hàm lượng glucose trong hạt *C. piriformis* (73,1%) cao hơn đáng kể so với *C. pseudoserrata* (68,5%) và *C. boisii* (66,5%). Hơn nữa, hàm lượng đạm trong hạt *C. piriformis* (4,4%) cũng cao hơn đáng kể so với *C. boisii* (Nguyen et al., 2016).

Mặc dù một số loài thuộc chi *Castanopsis* trên thế giới đã được nghiên cứu về thành phần hóa học và chứng minh có các hoạt tính sinh học giá trị, nhưng *C. piriformis* tại Việt Nam, ngoài việc được biết đến như một nguồn cung cấp gỗ, vẫn chưa được nghiên cứu sâu về thành phần hóa học cũng như các ứng dụng tiềm năng khác. Nhằm nâng cao giá trị của loài *Castanopsis* này tại Lâm Đồng nói riêng và Việt Nam nói chung, đồng thời cung cấp dữ liệu khoa học toàn diện về một loài cây tiềm năng trong y học, nghiên cứu này được thực hiện để xác định thành phần hóa học và các hoạt tính sinh học trong cao chiết methanol từ lá của loài cây này tại khu vực Lâm Đồng.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Lá của loài *Castanopsis piriformis* (Hickel & A.Camus) được thu tại đèo Gia Bắc vào tháng 10/2024 và được định danh bởi TS. Nguyễn Văn Ngọc, giảng viên Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt. Sau khi thu lá được tiến hành rửa sạch loại bỏ tạp chất, để ráo và sấy ở 45°C đến khi khối lượng không đổi. Mẫu dùng tách chiết hợp chất sẽ được xay nhỏ, bảo quản trong túi zip kín kèm silica gel, để nơi khô ráo, tránh ánh sáng trực tiếp.

### 2.2. Phương pháp chiết soxhlet và thu hồi cao chiết

Lá *C. piriformis* sau khi nghiền thành bột mịn được sử dụng để chiết xuất bằng phương pháp chiết soxhlet (Sohxlet, 1879). Mỗi lần tách chiết, 25 g bột được liệu với 500 mL methanol 70% được sử dụng trong 6 giờ. Dịch chiết thu sau khi kết thúc quá trình tách chiết được tiến hành loại bỏ dung môi bằng máy cô quay chân không ở 110 vòng/phút và nhiệt độ 50°C trong 30 phút. Sau đó, dịch cô đặc được cô cạn hoàn toàn trên bếp cách thủy ở 70°C để thu được cao chiết thô. Cao chiết được lưu trữ lạnh ở 4°C để dùng cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 2.3. Phương pháp định tính thành phần hóa học của cao chiết

Cao chiết lá *C. piriformis* thô đã được loại bỏ hoàn toàn dung môi được sử dụng cho các thí nghiệm định tính: cao chiết được hòa tan trong methanol 70% để đạt nồng độ 200 mg/mL. Sau khi hòa tan tiến hành lọc qua giấy lọc để loại bỏ các tạp chất. Dịch lọc thu được sử dụng ngay cho các thí nghiệm định tính.

Các nhóm hợp chất thứ cấp có trong cao chiết được tiến hành nhận biết bằng các phản ứng màu đặc trưng dựa trên phương pháp của Nguyen & Nguyen (Nguyen & Nguyen, 1985), phương pháp của Nguyen (Nguyen, 2007). Các hợp chất được tiến hành định tính gồm alkaloid, flavonoid, antraglycoside, glycoside, đường khử, saponin, sesquiterpen lacton, tannin, coumarin, aglycon và terpenoid - steroid.

### 2.4. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro*

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết lá *C. piriformis* được đánh giá qua phản ứng với gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Hoạt tính chống oxy hóa biểu hiện qua khả năng làm mất màu của DPPH, được xác định bằng phương pháp đo quang phổ ở bước sóng  $\lambda = 515$  nm (Marxen et al., 2007).

Tiến hành thí nghiệm: Dung dịch DPPH có nồng độ 1 mM được pha trong methanol. Mẫu cao chiết được pha trong nước cất. Dung dịch mẫu thử ở các nồng độ khác nhau được pha trộn với dung dịch DPPH trong các giếng đĩa 96 giếng. Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 30 phút. Sau khi ủ, độ hấp thụ của các giếng được đo bằng máy đo quang phổ Biotek ở bước sóng 517 nm. Phần trăm bắt gốc tự do của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$SC\% = (OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{mẫu thử}}) / OD_{\text{trắng}} (\%)$$

Trong đó: SC là phần trăm gốc tự do DPPH bị mẫu thử trung hòa (%),

OD trắng là nồng độ hấp thụ của dung dịch DPPH,

OD mẫu thử là độ hấp thụ của hỗn hợp mẫu thử và dung dịch DPPH.

Giá trị  $EC_{50}$  (nồng độ mẫu thử cần để ức chế 50% gốc tự do DPPH) được tính theo giá trị SC tương quan với các nồng độ khác nhau của chất thử, thí nghiệm được lặp lại 3 lần với  $n = 3$ . Phương trình đường chuẩn biểu thị tương quan giữa nồng độ DPPH và mật độ quang học là  $y = 0,3225x +$

0,00241 với  $R^2 = 0,9938$ . Phương trình này được sử dụng để tính toán các dữ liệu thu được từ thí nghiệm. Quercetin được sử dụng làm đối chứng dương.

### 2.5. Đánh giá khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được xác định dựa trên phản ứng phân cắt cơ chất p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG) dưới tác động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase giải phóng p-nitrophenol (pNP) có màu vàng. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được tiến hành đo ở bước sóng 410 nm sau 30 phút từ khi bắt đầu phản ứng. Lượng p-nitrophenol sinh ra tỉ lệ thuận với độ hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm bao gồm enzyme  $\alpha$ -glucosidase (CAS No 9001-42-7, Sigma), p-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (CAS No 3767-28-0, Sigma), 4-Nitrophenol (CAS No 100-02-7, Sigma), Dimethyl sulfoxide (CAS No 67-68-5, Sigma) và máy quang phổ BIOTEK – USA.

Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được tiến hành trên đĩa 96 giếng (Kim et al., 2004). Mẫu thử được pha loãng thành dãy nồng độ lần lượt là 256, 64, 16, 4, 1, 0,25 và 0,06  $\mu$ g/mL hoặc pha loãng hơn nếu mẫu có hoạt tính nhỏ hơn bằng DMSO (Dimethyl sulfoxide) và nước cất. Acarbose được sử dụng làm đối chứng dương. Thành phần các chất tham phản ứng trong một giếng gồm: Phosphate buffer 100 mM pH 6, 8;  $\alpha$ -glucosidase 0,2 U/mL, mẫu thử và p-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside 2,5 mM. Đối với mẫu đối chứng, mẫu thử được thay bằng đệm phản ứng. Hỗn hợp các chất được ủ ở 37°C trong vòng 30 phút, sau đó phản ứng được dừng bằng  $Na_2CO_3$ . Độ hấp thụ của phản ứng được đo bằng máy BIOTEK với bước sóng 410 nm. Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

$$\text{Độ ức chế (\%)} = [A(\text{đối chứng}) - A(\text{mẫu thử})] / A(\text{đối chứng}) \times 100\%$$

$IC_{50}$  là nồng độ chất thử ức chế 50% hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase được tính bằng phần mềm Tablecurve.

### 2.6. Đánh giá hoạt tính kháng ung thư

Hoạt tính chống ung thư của mẫu được đánh giá trên bốn dòng tế bào ung thư bao gồm: ung thư biểu mô KB (CCL-17<sup>TM</sup>), ung thư gan HepG2 (HB-8065<sup>TM</sup>), ung thư vú MCF-7 (HTB-22<sup>TM</sup>) và ung thư phổi A549 (CCL-185<sup>TM</sup>), lấy từ bộ sưu tập nuôi cấy loại Mỹ (ATCC). Các tế bào được nuôi cấy trong DMEM (Dulbeccos Modified Eagle Medium) bổ

sung 7 - 10% FBS (Fetal Bovine Serum) và các chất dinh dưỡng cần thiết sau khi được rã đông từ kho chứa nitơ lỏng. Các tế bào đã rã đông được nuôi cấy trong tủ ẩm có độ ẩm 37% với 5% CO<sub>2</sub>. Các tế bào ở pha tăng trưởng log được sử dụng để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Khả năng sống sót của bốn dòng tế bào thử nghiệm được đánh giá bằng xét nghiệm MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) theo mô tả của Mosmann (1983). Thí nghiệm được tiến hành trên 96 giếng với 190 µL dung dịch tế bào được pha cùng cao chiết được pha thành dải nồng độ 4, 16, 64 và 256 µg/mL ở trong 72 giờ. Sau thời gian ủ, mỗi giếng được thêm 10 µL dung dịch MTT (5 mg/mL) tiếp tục ủ trong 4 giờ. Hòa tan các tinh thể formazan hình thành trong 100 µL DMSO và tiến hành đo độ hấp thụ của mẫu thử bằng máy đọc đĩa ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent assay) ở bước sóng 540 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Giá trị IC<sub>50</sub> được xác định là phần trăm ức chế tế bào phát triển và phần mềm Rawdata. Phần trăm ức chế được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế tế bào} = \frac{OD \text{ chứng (+)} - OD \text{ mẫu thử}}{OD \text{ chứng (+)} - OD \text{ chứng (-)}} \times 100$$

$$IC_{50} = \text{HighConc} - \frac{(\text{HighInh}\% - \text{LowConc}) \cdot (\text{HighConc} - \text{LowConc})}{\text{HighInh}\% - \text{LowInh}\%}$$

Trong đó: HighConc: chất thử ở nồng độ cao nhất,

LowConc: chất thử ở nồng độ thấp nhất,

HighInh %: % ức chế ở nồng độ cao nhất,

LowInh %: % ức chế ở nồng độ thấp nhất.

### 2.7. Đánh giá hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm của cao chiết *C. piriformis* được khảo sát dựa trên phương pháp xác định khả năng ức chế Nitric oxide (NO Inhibition) của tế bào macrophare RAW 264.7 (Tsai et al., 2007). Trong thí nghiệm, dòng tế bào RAW 264.7 nuôi cấy trong môi trường DMEM bổ sung hỗn hợp 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) và 1,0 mM sodium pyruvate ngoài ra thêm 10% fetal bovine serum - FBS (GIBCO) đã được sử dụng. Tế bào được cấy chuyển sau 3 - 5 ngày với tỉ lệ 1:3 và tiến hành nuôi trong tủ ẩm 37°C và 5% CO<sub>2</sub>.

Tế bào RAW 274.7 được đưa vào giếng 96 đĩa ở nồng độ 2 x 10<sup>6</sup> tb/mL và ủ ở 37°C với 5% CO<sub>2</sub>

trong vòng 24 giờ. Sau 24 giờ, việc loại bỏ môi trường nuôi cấy thay vào đó bằng môi trường DMEM không chứa FBS đã được tiến hành. Trước khi tiến hành kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (Lipopolysaccharides) (1 µg/mL) trong 24h tế bào trước đó được ủ ở các nồng độ khác nhau trong 2 giờ. Đối chứng âm là mẫu dung dịch pha loãng không trải qua thời gian ủ (ở các nồng độ 100, 20, 4 và 0,8 µg/mL), đối chứng dương là Dexamathasone ở các nồng độ 100; 20; 4; 0,8 µM.

Sau khi ủ mẫu, 100 µL môi trường nuôi được chuyển sang đĩa 96 giếng mới và thêm vào 100 µL thuốc thử Griess. Hỗn hợp này tiếp tục được ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 10 phút, sau đó tiến hành đo hàng lượng Nitrite bằng máy BioTek ở bước sóng 540 nm. Mẫu blank là môi trường DMEM không có FBS. Hàm lượng Nitrite của từng mẫu được xác định dựa vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO<sub>2</sub> và so sánh với đối chứng âm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Phần trăm ức chế sự sản sinh NO được xác định theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế} = 100 - \left( \frac{\text{Hàm lượng NO sample}}{\text{Hàm lượng NOLPS}} \right) * 100$$

Giá trị IC<sub>50</sub> tức nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO được xác định bằng phần mềm TableCurve 2Dv4.

Đĩa nuôi cấy thử nghiệm sự biểu hiện NO ở trên sau khi thu dịch nổi để xác định hàm lượng NO được thêm vào mỗi giếng 90 µL môi trường nuôi cấy tế bào và 10 µL MTT (nồng độ 5 mg/mL). Sau 4 giờ, việc loại bỏ môi trường và hòa tan tinh thể formazan bằng 50 µL DMSO 100% đã được tiến hành. Giá trị OD được đo tại bước sóng 540 nm bằng máy BioTeck. Khả năng sống sót của các tế bào khi có chất thử được xác định bằng công thức:

$$\% \text{ sống sót} = \frac{OD \text{ mẫu} - OD \text{ blank}}{OD \text{ DMSO} - OD \text{ blank}} \times 100$$

### 2.8. Xử lý số liệu

Dữ liệu thí nghiệm, thu được từ thiết kế ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại mỗi thí nghiệm thức, đã được phân tích và xử lý trên phần mềm Microsoft Excel 2016. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình cộng ± SE (sai số chuẩn).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả định tính các nhóm hợp chất thử cấp trong cao chiết methanol

Cao chiết methanol lá loài dẻ anh thu được 4,79 ± 0,31 g/25 g lá khô, với hiệu suất chiết cao là 19,1 ± 1,25% (so với trọng lượng khô). Bảng cách các phản ứng đặc trưng cho từng nhóm hợp chất được

sử dụng, kết quả nghiên cứu bước đầu đã giúp xác định được một số nhóm hợp chất có trong cao chiết lá *Castanopsis piriformis* thu tại Lâm Đồng (Bảng 1). Các nhóm hợp chất được tìm thấy bao gồm flavonoid, antraglycoside, glycoside, đường khử, tannin, sesquiterpen lacton, coumarin và terpenoid-steroid. Điều này không ghi nhận sự hiện diện của alkaloid, saponin và aglycon.

Các nghiên cứu trước đây, thành phần hợp chất của các loài thuộc chi *Castanopsis* bao gồm polyphenol, flavonoid và triterpenoid (Gao et al., 2020) đã được ghi nhận. Cụ thể, kết quả nghiên cứu của Wang et al. (2022) trên lá *C. tibetana* sử dụng dung môi methanol 80% đã xác định được các hợp chất (6S,9S)-6'-galloyl-roseoside, purpurogallin

ethyl carboxylate và tibetana A. Trong khi đó, cao chiết lá của hai loài *C. indica* và *C. tribuloides* bằng methanol chứa một loạt các hợp chất như carbohydrate, flavonoid, protein/amino acid, đường khử, phenol, saponin, terpenoid, anthraquinone, steroid, tannin và phlobatannin (Muni et al., 2024). Kết quả so sánh với các nghiên cứu này cho thấy thành phần hợp chất trong cao chiết lá dễ anh cho thấy sự tương đồng, đặc biệt là sự hiện diện của flavonoid, một nhóm hợp chất thường được tìm thấy trong chi *Castanopsis* (Gao et al., 2020). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu về dễ anh không phát hiện alkaloid, saponin và aglycon, điều này khác với kết quả của Muni et al. (2024) trên loài *C. indica* và *C. tribuloides*.

**Bảng 1. Thành phần hóa học có trong cao chiết methanol từ lá loài dễ anh**

Nhóm chất	Các phản ứng/ thuốc thử nhận biết	Hiện tượng	Kết quả	Kết luận
Alkaloid	Wagner	Không xuất hiện kết tủa nâu đỏ	-	Không
	Mayer	Không xuất hiện kết tủa vàng	-	
Flavonoid	NH <sub>3</sub> đậm đặc	Dung dịch chuyển sang màu vàng	+	Có
	AgNO <sub>3</sub>	Xuất hiện kết tủa bạc	+	
Antraglycoside	Mg + HCl đậm đặc	Dung dịch thử đổi sang màu hồng	+	Có
	KOH 10%	Dung dịch thử đổi sang màu đỏ	+	
Glycoside	Keller-Killiani	Dung dịch thử chuyển sang màu xanh lục	+	Có
Đường khử	Fehling	Xuất hiện kết tủa đỏ gạch	+	Có
Saponin	NaOH 0.1N	Xuất hiện bọt không bền	-	Không
	HCl 0.1N	Xuất hiện bọt không bền	-	
Tannin	Gelatin mặn	Dung dịch thử xuất hiện kết tủa nâu	+	Có
	Gelatin 1%	Dung dịch thử xuất hiện kết tủa bông	+	
	Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> 1%	Dung dịch thử xuất hiện kết tủa vàng	+	
	FeCl <sub>3</sub>	Dung dịch thử chuyển sang màu xanh đen	+	
Sesquiterpen lacton	Tollen	Dung dịch thử xuất hiện kết tủa bạc	+	Có
Coumarin	NaOH 10% + CHCl <sub>3</sub>	Dung dịch thử đổi sang màu vàng cam	+	Có
Aglycon	Trim-Hill	Dung dịch thử không xuất hiện màu xanh dương	-	Không
Terpenoid - steroid	(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	Dung dịch thử xuất hiện màu đỏ nhạt	+	Có

**3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* của cao chiết methanol**

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết lá *C. piriformis* được đánh giá thông qua phản ứng làm mất màu gốc tự do DPPH, quercetin được sử dụng để làm đối chứng dương. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH của cao chiết được thể hiện trong Bảng 2.

**Bảng 2. Hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* của cao chiết methanol**

STT	Tên mẫu	Giá trị EC <sub>50</sub> (µg/mL)
1	Cao chiết methanol	78,22 ± 7,50
2	Quercetin	9,80 ± 0,30

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết methanol từ lá *C. piriformis* có khả năng chống oxy hóa, với giá trị EC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% gốc tự do DPPH)

là  $78,22 \pm 7,50 \mu\text{g/mL}$ . So với đối chứng dương quercetin ( $\text{EC}_{50} = 9,80 \pm 0,30 \mu\text{g/mL}$ ), hiệu quả bắt gốc tự do của cao chiết *C. piriformis* thấp hơn. Mặc dù chưa có công bố nào về khả năng chống oxy hóa của riêng loài *C. piriformis*, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện trên các loài cùng chi. Cụ thể, Minh et al. (2016) đã khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của *C. grandicaticata* và *C. phuthoensis* thu tại Việt Nam bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH và ghi nhận giá trị  $\text{EC}_{50}$  lần lượt là  $0,308 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$  và  $0,178 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$ . Alkandahri et al. (2016) cũng đã chứng minh khả năng chống oxy hóa của lá *C. costata* thu tại Indonesia với  $\text{EC}_{50}$  là  $35,56 \mu\text{g/mL}$ . Kết quả nghiên cứu của Wang et al. (2023) trên hai hợp chất phân lập từ lá *C. chinensis* (chinensin D và chinensin E) cho thấy khả năng bắt gốc tự do khá tốt, với giá trị  $\text{EC}_{50}$  lần lượt là  $54,5 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$  và  $52,5 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$ .

Những kết quả này cho thấy phần lớn các loài thuộc chi *Castanopsis* đều thể hiện khả năng chống

oxy hóa. Wang et al. (2023) cho rằng khả năng này liên quan đến hàm lượng lớn các hợp chất phenolic, đặc biệt là trong lá. Nhận định này phù hợp với kết quả định tính về sự hiện diện của nhóm phenolic và kết quả chống oxy hóa của *C. piriformis* trong nghiên cứu hiện tại. Nghiên cứu của Alkandahri et al. (2024) sử dụng ba dung môi (nước, ethyl acetate và n-hexane) trên lá *C. costata* với kết quả  $\text{EC}_{50}$  lần lượt là  $40,22 \pm 1,18$ ,  $39,46 \pm 1,08$  và  $44,20 \pm 1,04 \text{ mg/mL}$ , điều này chứng minh rằng dung môi chiết xuất cũng ảnh hưởng đến khả năng chống oxy hóa thông qua hiệu quả chiết xuất các nhóm hợp chất.

### 3.3. Kết quả đánh giá khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao chiết methanol lá *C. piriformis* trong nghiên cứu này được đánh giá dựa trên khả năng thủy phân p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG). Giá trị  $\text{IC}_{50}$  của cao chiết và acarbose (đối chứng dương) được thể hiện trong bảng 3.

**Bảng 3. Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao chiết methanol**

Tên mẫu	Nồng độ thử ( $\mu\text{g/ml}$ )	Phần trăm ức chế (%)	Giá trị $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Cao mẫu 8	256	100	$0,57 \pm 0,01$
	64	100	
	16	100	
	4	91	
	1	71	
	0,25	34	
	0,06	20	
Acarbose	256	63	$198,5 \pm 6,25$
	64	38	
	16	0	
	4	0	

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy cao chiết methanol từ lá dễ anh thể hiện khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase vượt trội so với đối chứng dương Acarbose. Giá trị  $\text{IC}_{50}$  của cao chiết là  $0,57 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ , trong khi giá trị  $\text{IC}_{50}$  của acarbose là  $198,5 \pm 6,25 \mu\text{g/mL}$ .

Một số nghiên cứu trên thế giới đã được công bố về khả năng chống tiểu đường thông qua đánh giá hiệu quả ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các loài thuộc chi *Castanopsis*. Ví dụ, Hasan et al. (2024) đã báo cáo giá trị  $\text{IC}_{50}$  ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao chiết methanol loài *C. tribuloides* là  $550 \mu\text{g/mL}$ . Một vài nghiên cứu trước đây cũng đã được tập trung thực hiện vào các nhóm chất cụ thể có khả năng chống tiểu đường thông qua ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Năm 2023, hai hợp chất phenolic được

phân lập từ loài *C. chinensis* Hance cho thấy giá trị  $\text{IC}_{50}$  đều  $\geq 10.000 \mu\text{g/mL}$ , thấp hơn nhiều so với Acarbose ( $\text{IC}_{50} = 0,515 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ ) (Wang et al., 2023). Dựa trên kết quả của Wang (2023), flavonoid, terpenoid và glycoside được xác định là các nhóm chất đóng góp vào hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase (chống tiểu đường) của các loài *Castanopsis*.

Kết hợp kết quả khảo sát khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và kết quả định tính về thành phần hóa học trong nghiên cứu này có thể cho thấy hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao chiết lá *C. piriformis* có thể được giải thích bởi sự hiện diện của các nhóm chất như flavonoid, terpenoid và glycoside. Sự hiện diện của các nhóm chất này cho thấy tiềm năng rất lớn của loài cây này trong y học,

đặc biệt là trong điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường.

**3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng ung thư**

Trong nghiên cứu này, phương pháp MTT được sử dụng để đánh giá khả năng gây độc tế bào của cao

**Bảng 4. Hoạt tính gây độc tế bào trên 4 dòng tế bào ung thư thử nghiệm**

Tên mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Phần trăm ức chế dòng tế bào			
		KB	HepG2	A549	MCF7
Cao chiết	256	76	79	79	77
	64	71	75	74	63
	16	30	30	37	28
	4	5	3	6	9
	IC <sub>50</sub>	39,41±1,66	37,33±1,51	32,86±1,83	46,17±1,94
Ellipticine	IC <sub>50</sub>	0,45±0,02	0,45±0,02	0,44±0,02	0,44±0,02

Kết quả cho thấy cao chiết lá *C. piriformis* có tác dụng gây độc tế bào trên cả bốn dòng tế bào ung thư thử nghiệm, với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 39,41 ± 1,66 µg/mL (KB), 37,33 ± 1,51 µg/mL (HepG2), 32,86 ± 1,83 µg/mL (A549) và 46,17 ± 1,94 µg/mL (MCF-7). Mặc dù giá trị IC<sub>50</sub> trên các dòng tế bào không chênh lệch quá nhiều, nhưng khả năng gây độc tốt nhất được ghi nhận trên dòng tế bào ung thư phổi (A549) và thấp nhất là trên tế bào ung thư vú (MCF-7). Kết quả trên hai dòng ung thư biểu mô (KB) và ung thư gan (HepG2) cho thấy sự chênh lệch không đáng kể. Điều này cho thấy cao chiết methanol *C. piriformis* có tiềm năng trong việc chống lại các dòng tế bào ung thư, mặc dù giá trị IC<sub>50</sub> thấp hơn so với đối chứng dương Ellipticine.

Kết quả so sánh hoạt tính kháng ung thư với các loài *Castanopsis* khác cho thấy, cao chiết methanol từ lá loài *C. indica* cho thấy khả năng chống tế bào ung thư cổ tử cung (EAC) với IC<sub>50</sub> = 71,50 ± 6,25 µg/mL (Dolai et al., 2012). Ngược lại, loài *C. fargesii* không ức chế các dòng tế bào A549, SMMC-7721, MGC-803, HepG2 và MCF-7 (Huang et al., 2017). Điều này cho thấy sự khác biệt về hoạt tính chống ung thư giữa các loài trong chi *Castanopsis*. Trong bối cảnh đó, kết quả của *C. piriformis* trên các dòng A549, HepG2 và MCF-7 được coi là tương đối khả quan.

**3.5. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng viêm**

Để đánh giá hoạt tính kháng viêm, phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh Nitric oxide (NO) trên tế bào RAW 264.7 đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy cao chiết methanol từ *C. piriformis* thể hiện khả năng ức chế NO với giá trị IC<sub>50</sub> là 52,65 ± 4,17 µg/mL. So với đối chứng dương Dexamethasone (IC<sub>50</sub> = 13,29 ±

1,37 µg/mL), khả năng ức chế của cao chiết *C. piriformis* thấp hơn. Tuy nhiên, so với nghiên cứu trước đây trên *C. indica* (IC<sub>50</sub> = 103,20 ± 2,41 µg/mL), khả năng ức chế NO của cao chiết *C. piriformis* cao hơn gần gấp đôi (Alkandahr et al., 2023). Kết quả này cho thấy *C. piriformis* có tiềm năng ứng dụng trong điều trị các bệnh liên quan đến viêm. Các nghiên cứu khác cũng được củng cố thêm nhận định này. Chẳng hạn, nhóm nghiên cứu của Kim et al. (2023) đã ghi nhận dịch chiết methanol 80% từ lá *C. sieboldii* có khả năng ức chế giải phóng NO và biểu hiện iNOs (inducible nitric oxide synthase - enzyme cảm ứng tổng hợp oxit nitric) trên tế bào gan người. Một nghiên cứu khác của Alkandahri et al. (2024), kết quả cũng cho thấy *C. costata* có hoạt tính kháng viêm được đánh giá bằng phương pháp chống phù nề ở chuột, với nồng độ 50 và 100 mg/kg cho kết quả tương đương với thuốc chuẩn diclofenac natri.

Kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

Alkandahri et al. (2023) đã chỉ ra mối liên hệ giữa các hợp chất như flavonoid, terpenoid, alkaloid và steroid với khả năng ức chế tổng hợp NO, trong đó tannin đóng vai trò quan trọng trong hoạt động kháng viêm của tế bào. Kết hợp với kết quả định tính sơ bộ, sự hiện diện của các nhóm hợp chất này, đặc biệt là flavonoid và tannin, trong *C. piriformis* có thể giải thích cho khả năng ức chế sản sinh NO tương đối tốt được quan sát trong nghiên cứu này.

**4. KẾT LUẬN**

Nghiên cứu về cao chiết lá loài dẻ anh (*Castanopsis piriformis*) thu tại Lâm Đồng đã chứng minh tiềm năng giá trị của loài cây này trong y học. Cao chiết chứa nhiều nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học, bao gồm flavonoid, antraglycoside, glycoside, đường khử, tannin, sesquiterpen lacton,

coumarin và terpenoid-steroid, nhưng không chứa alkaloid, saponin và aglycon. Đáng chú ý, cao chiết thể hiện hoạt tính chống tiểu đường vượt trội, cùng với khả năng chống ung thư (đặc biệt là ung thư phổi) và kháng viêm khá tốt. Mặc dù khả năng chống oxy hóa không cao, những kết quả này cho thấy *C. piriformis* là một nguồn tài nguyên tiềm năng cho các ứng dụng y học.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Alkandahri, M. Y., Nisriadi, L., & Salim, E. (2016). Secondary metabolites and antioxidant activity of methanol extract of *Castanopsis costata* leaves. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*, 1(3), 98-102. <https://doi.org/10.15416/pcpr.v1i3.15203>
- Alkandahri, M. Y., Sadino, A., Pamungkas, B. T., Oktoba, Z., Arfania, M., Yuniarsih, N., Wahyuningsih, E. S., & Putri, D. E. (2024). Pharmacological evaluation of anti-inflammatory, antipyretic, analgesic, and antioxidant activities of *Castanopsis costata* leaf fractions (water, ethyl acetate, and n-hexane fractions): the potential medicinal plants from North Sumatra, Indonesia. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 19(3), 251-266. [https://doi.org/10.4103/RPS.RPS\\_201\\_23](https://doi.org/10.4103/RPS.RPS_201_23)
- Alkandahri, M. Y., Sholih, M. G., Fadilah, N. N., Arfania, M., Amal, S., Frianto, D., Mardiana, L. A., Astuti, D., & Hasyim, D. M. (2023). Evaluation of Antidiarrheal, Antispasmodic, and Antisecretory Activities of Extract and Fractions of *Castanopsis costata* Leaves in Animal Models. *Pharmacognosy Journal*, 15(1), 31-37.
- Arthur, H. R., & Ko, P. D. (1969). The occurrence of triterpenoid, phenolic, and other compounds in the leaves of six endemic *Castanopsis* species of Hong Kong. *Australian Journal of Chemistry*, 22(3), 597-597. <https://doi.org/10.1071/CH9690597>
- Dolai, N., Karmakar, I., Kumar, R. B., Bala, A., Mazumder, U. K., & Haldar, P. K. (2012). Antitumor potential of *Castanopsis indica* (Roxb. ex Lindl.) A. DC. leaf extract against Ehrlich's ascites carcinoma cell. *Nisair-csir, India*, 359-365.
- Dong, T. L., Van, N. B., Thang, N., & Dung, L. T. (2007). Identifying species, distribution areas, and silviculture characteristics of chestnuts in Central Highlands, Vietnam. *Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development*, 18(11), 59-66.
- Gao, Y., Wang, J. Q., Fu, Y. Q., Yin, J. F., Shi, J., & Xu, Y. Q. (2020). Chemical composition, sensory properties and bioactivities of *Castanopsis lamontii* buds and mature leaves. *Food Chemistry*, 316, 126370. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126370>
- Hasan, T., Siam, S. M. M., Bhuiyan, M. R., Jahan, E., Nahar, N., Sakib, M. S., ... & Daula, A. S. U. (2024). Mechanisms of *Castanopsis tribuloides* targeting  $\alpha$ -glucosidase for the management of type-2 diabetes: Experimental and computational approaches. *Process Biochemistry*, 145, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.06.014>
- Huang, Y. L., Tanaka, T., Matsuo, Y., Kouno, I., Li, D. P., & Nonaka, G. I. (2012). Two new phenolic glucosides and an ellagitannin from the leaves of *Castanopsis sclerophylla*. *Phytochemistry Letters*, 5(1), 158-161. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.11.014>
- Huang, Y. L., Wang, Y. F., Liu, J. L., Wang, L., Tanaka, T., Chen, Y. Y., ... & Li, D. P. (2017). Phenolic compounds from the leaves of *Castanopsis fargesii*. *Molecules*, 22(1), 162. <https://doi.org/10.3390/molecules22010162>
- Ilyas, I., Surya, M. I., Lailaty, I. Q., Damayanti, F., & Nuringtyas, T. R. (2023). Metabolite Profile and Antibacterial Potential of Leaf And Stem Extract *Castanopsis tungurrut* (Blume) A. DC. against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In *BIO Web of Conferences*, 75, p. 03002-03008.
- Kim, Y. M., Wang, M. H., & Rhee, H. I. (2004). "A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from pine bark". *Carbohydr. Res.*, 339, 715-717. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2003.11.005>
- Kim, J. M., Cho, S. S., Kang, S., Moon, C., Yang, J. H., & Ki, S. H. (2023). *Castanopsis sieboldii* extract alleviates acute liver injury by antagonizing inflammasome-mediated pyroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 11982. <https://doi.org/10.3390/ijms241511982>
- Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U. P. (2007). Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 7(10), 2080-2095. <https://doi.org/10.3390/s7102080>

## LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin chân thành cảm ơn các đồng nghiệp của chúng tôi từ Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt, Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ về kỹ thuật cho chúng tôi trong suốt quá trình nghiên cứu. Nghiên cứu này được tài trợ bởi tổ chức GCCO và The Morton Arboretum, Hoa Kỳ.

- Minh, T. N., Ha, P. T. T., Elzaawely, A. A., & Xuan, T. D. (2016). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Castanopsis phuthoensis* and *Castanopsis grandicaticata*. *International Letters of Natural Sciences*, 55, 77-78. <https://doi.org/10.56431/p-2411sl>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Muni, N., Bhadra, P., Moyong, M., Borah, S., Rajashekar, Y., & Chakravorty, J. (2024). Screening of Bioactive Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Properties in the Leaf Extracts of Two *Castanopsis* Species. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 30(3), 264-277. <https://doi.org/10.1080/10496475.2024.2350066>
- Nguyen, T. T., Chan, V. D., Tamotsu, S., Nguyen, T. B., Osamu, K., & Ngo, V. C. (2016). Yield and Nutrient Content of Chestnut (*Castanopsis piriiformis*) in Natural Central Highlands Forests, Vietnam. *Small-scale Forestry*, 15, 229-239. <https://doi.org/10.1007/s11842-015-9319-5>
- Nguyen, B. T. (2003). *List of Vietnamese Plant species*. Agriculture Publishing House, Ha Noi (In Vietnamese).
- Nguyen, K. P. P. (2007). *Methods of isolation of organic compounds*. Publisher Vietnam National University Ho Chi Minh City, 28-36 (In Vietnamese).
- Nguyen, V. D., & Nguyen, V. T. (1985). *Chemical research methods of medicinal plants*. Medical Publishing House (In Vietnamese).
- Soxhlet, F. V. (1879). Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. *Polytechnisches Journal*, 232(5), 461-465.
- Tsai, P. J., Tsai, T. H., Yu, C. H., & Ho, S. C. (2007). Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with green tea. *Food Chemistry*, 103(1), 181-187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.013>
- Yang, B. Y., Wang, Y. F., Li, G. Q., He, R. J., & Huang, Y. L. (2024). Genus *Castanopsis*: A review on phytochemistry and biological activities. *Fitoterapia*, 179, 106216. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.106216>
- Vuong, D. H., & Xia, N. H. (2014). Two new species in *Castanopsis* (Fagaceae) from Vietnam and their leaf cuticular. *Phytotaxa*, 186(1), 029-041. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.186.1.2>
- Wang, Y. F., Lin, P., Huang, Y. L., He, R. J., Yang, B. Y., & Liu, Z. B. (2023). Isolation of two new phenolic glycosides from *Castanopsis Chinensis* Hance by combined multistep CC and HSCCC separation and evaluation of their antioxidant activity. *Molecules*, 28(8), 3331. <https://doi.org/10.3390/molecules28083331>