



Original Article

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

Bui Thi Thanh Duyen<sup>1</sup>, Dang Kim Thu<sup>1</sup>, Vu Manh Hung<sup>2</sup>, Bui Thanh Tung<sup>1,\*</sup>

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

<sup>2</sup>Military Medical University, 160 Phung Hung, Phuc La, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

Received 10 February 2020

Revised 18 February 2020; Accepted 20 March 2020

**Abstract:** *Celastrus hindsii* Benth et Hook. is known as a herbal medicine for the treatment of cancer. In this study we evaluated the cytotoxic and antioxidant effects of *Celastrus hindsii* Benth et Hook. leaf extract. Samples of *Celastrus hindsii* were extracted with 90 % ethanol and subsequently fractionated with n-hexane, ethyl acetate (EtOAc) and n-butanol (n-BuOH) solvents. To evaluate the cytotoxic effect, we performed MTT (3- (4,5 dimethylthiazol-2 - yl) - 2,5 - diphenyltetrazolium) assay on the three cell lines human liver Hep G2 (HB - 8065<sup>TM</sup>), lung LU-1 (HTB - 57<sup>TM</sup>), breast MCF-7 (HTB - 22<sup>TM</sup>). The antioxidant effect was evaluated by screening DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. The results showed that the EtOAc fraction had the strongest cytotoxicity effects on liver cancer cells and lung cancer cells with an IC<sub>50</sub> value of 33,7 ± 1,5 µg/mL and 13,0 ± 0,5 µg/mL. The BuOH fraction showed a weaker effect on lung cancer cells with IC<sub>50</sub> value of 64,0 ± 2,2 µg/mL. The antioxidant results indicated that the EtOAc fraction had the best antioxidant effect with IC<sub>50</sub> value of 46,9 ± 2,5 µg/mL. The EtOH total extract also has strong antioxidant activity with IC<sub>50</sub> value of 48,5 ± 2,3 µg/mL. Our study showed that *Celastrus hindsii* leaf extract has the strong cytotoxicity and antioxidant activities.

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

\* Corresponding author.

E-mail address: [tungasia82@gmail.com](mailto:tungasia82@gmail.com)

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



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

Bùi Thị Thanh Duyên<sup>1</sup>, Đặng Kim Thu<sup>1</sup>, Vũ Mạnh Hùng<sup>2</sup>, Bùi Thanh Tùng<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Học Viện Quân Y, 160 Phùng Hưng, Phúc La, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 10 tháng 02 năm 2020

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

**Tóm tắt:** Cây xạ đen được biết đến trong dân gian là một dược liệu có tác dụng trong điều trị ung thư. Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư và tác dụng chống oxy hóa của lá xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.). Mẫu lá xạ đen được chiết bằng ethanol 90% và tiến hành chiết phân đoạn lần lượt với n-hexane (Hex), ethyl acetate (EtOAc) và n-butanol (n-BuOH). Tác dụng ức chế tế bào ung thư được thực hiện bằng phương pháp MTT (3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) trên 3 dòng tế bào: ung thư gan Hep G2 (HB - 8065<sup>TM</sup>), ung thư phổi LU-1 (HTB - 57<sup>TM</sup>), ung thư vú MCF-7 (HTB - 22<sup>TM</sup>). Tác dụng chống oxy hóa được tiến hành thông qua phương pháp quét gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Kết quả ức chế tế bào ung thư cho thấy phân đoạn EtOAc có tác dụng gây độc tế bào ung thư gan, phổi mạnh nhất so với các phân đoạn khác với IC<sub>50</sub> lần lượt là 33,7 ± 1,5 µg/mL và 13,0 ± 0,5 µg/mL. Phân đoạn BuOH cho tác dụng yếu hơn với tế bào ung thư phổi với IC<sub>50</sub> là 64,0 ± 2,2 µg/mL. Kết quả chống oxy hóa chỉ ra rằng phân đoạn EtOAc có tác dụng chống oxy hóa tốt nhất với IC<sub>50</sub> là 46,9 ± 2,5 µg/mL. Cao EtOH toàn phần cũng thể hiện tác dụng chống oxy hóa mạnh với IC<sub>50</sub> là 48,5 ± 2,3 µg/mL. Kết quả nghiên cứu này cho thấy cao chiết lá xạ đen có tác dụng ức chế tế bào ung thư và chống oxy hóa cao.

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

### 1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, tỷ lệ mắc các bệnh ung thư đang ngày càng gia tăng và đang ở

mức đáng báo động trên thế giới cũng như tại Việt Nam. Ung thư là một bệnh lý ác tính của tế bào. Khi có các tác nhân gây ung thư, các tế bào

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: [tungasia82@gmail.com](mailto:tungasia82@gmail.com)

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

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

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

## 2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu

Lá xạ đen được thu hái vào tháng 6 năm 2019 tại Buôn Ma Thuột. Mẫu nghiên cứu được giám định thực vật học bởi Bộ môn Dược Liệu và Y học Cổ truyền, Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Lá xạ đen sau khi thu hái được rửa sạch, sấy khô ở 50°C và cắt nhỏ. Tiến hành chiết xuất

1 kg lá xạ đen với dung môi ethanol 90% thu được dịch chiết, lặp lại 3 lần, gộp dịch chiết sau đó lọc. Cô quay thu hồi dung môi, thu được cao toàn phần EtOH (300g). Cao toàn phần EtOH (100g) tiếp tục được chiết phân đoạn như sau: hòa tan cao tổng vào nước sau đó chiết lần lượt bằng các dung môi n-hexane 5 g, EtOAc 32 g và n-Butanol 50 g thu được các phân đoạn dịch chiết. Cô quay thu hồi cồn dịch chiết các phân đoạn để tiến hành thử hoạt tính.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

Hoạt tính độc tính tế bào được thực hiện dựa trên phương pháp MTT (3-(4,5 dimethylthiazol-2 - yl) - 2, 5 - diphenyltetrazolium). Đây là phương pháp đánh giá khả năng sống sót của tế bào qua khả năng khử MTT (màu vàng) thành một phức hợp formazan (màu tím) bởi hoạt động của enzym dehydrogenase trong ty thể [6]. Nghiên cứu này chúng tôi tiến hành trên 3 dòng tế bào ung thư: ung thư gan Hep G2 (HB - 8065<sup>TM</sup>), ung thư phổi LU-1 (HTB - 57<sup>TM</sup>), ung thư vú MCF-7 (HTB - 22<sup>TM</sup>). Mẫu thử được hòa tan bằng dung môi dimethyl sulfoxid (DMSO) với nồng độ ban đầu là 20 mg/mL. Tiến hành pha loãng 2 bước trên đĩa 96 giếng thành 5 dãy nồng độ từ cao xuống thấp lần lượt là 2564; 640; 160; 40 và 10 µg/mL. Nồng độ chất thử trong đĩa thử nghiệm tương ứng là 128; 32; 8; 2 và 0,5 µg/mL. Chất đối chứng Ellipticine pha trong DMSO với nồng độ 0,01 mM. Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm tế bào. Tiếp đó, pha tế bào bằng môi trường sạch và điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm (khoảng 1-3x10<sup>4</sup> tế bào/mL tùy theo từng dòng tế bào). Lấy vào mỗi giếng 10 µL chất thử đã chuẩn bị ở trên và 190 µL dung dịch tế bào. Đối chứng dương của thí nghiệm là môi trường có chứa tế bào, đối chứng âm chỉ có môi trường nuôi cấy. Đĩa thí nghiệm được ủ ở điều kiện tiêu chuẩn. Sau 72 giờ mỗi giếng thí nghiệm được tiếp tục ủ với 10 µL MTT (5 mg/mL) trong 4h. Sau khi loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 100 µL DMSO 100%. Kết quả thí nghiệm

được xác định bằng giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm trên máy quang phổ Biotek. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

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

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

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

### 2.2.2. Phương pháp đánh giá tác dụng chống oxy hóa

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

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

$$\% I = \frac{Ac - At}{Ac - A_0} \times 100\%$$

Trong đó:

I %: Hoạt tính chống oxy hóa;

Ac: Độ hấp thụ của mẫu chứng;

At: Độ hấp thụ của mẫu thử;

A<sub>0</sub>: Độ hấp thụ của mẫu trắng (sử dụng methanol).

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

### 2.3. Xử lý số liệu

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

## 3. Kết quả

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

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

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

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

Từ Bảng 1, thuốc đối chứng dương Ellipticine cho thấy tác dụng gây độc rõ rệt đối với cả ba dòng tế bào ung thư gan, phổi và vú với

$IC_{50}$  lần lượt là 0,35  $\pm$  0,02; 0,45  $\pm$  0,03 và 0,58  $\pm$  0,05 ( $\mu$ g/mL). Cao chiết toàn phần EtOH chưa thể hiện tác dụng độc tính với các dòng tế bào

ung thư. Phân đoạn EtOAc có tác dụng độc tính với hai dòng tế bào ung thư gan và phổi, với IC<sub>50</sub> lần lượt là 33,7 ± 1,5 và 13,0 ± 0,5 µg/mL. Phân đoạn BuOH có khả năng gây độc nhẹ với tế bào ung thư phổi, IC<sub>50</sub> là 64,0 ± 2,2 µg/mL.

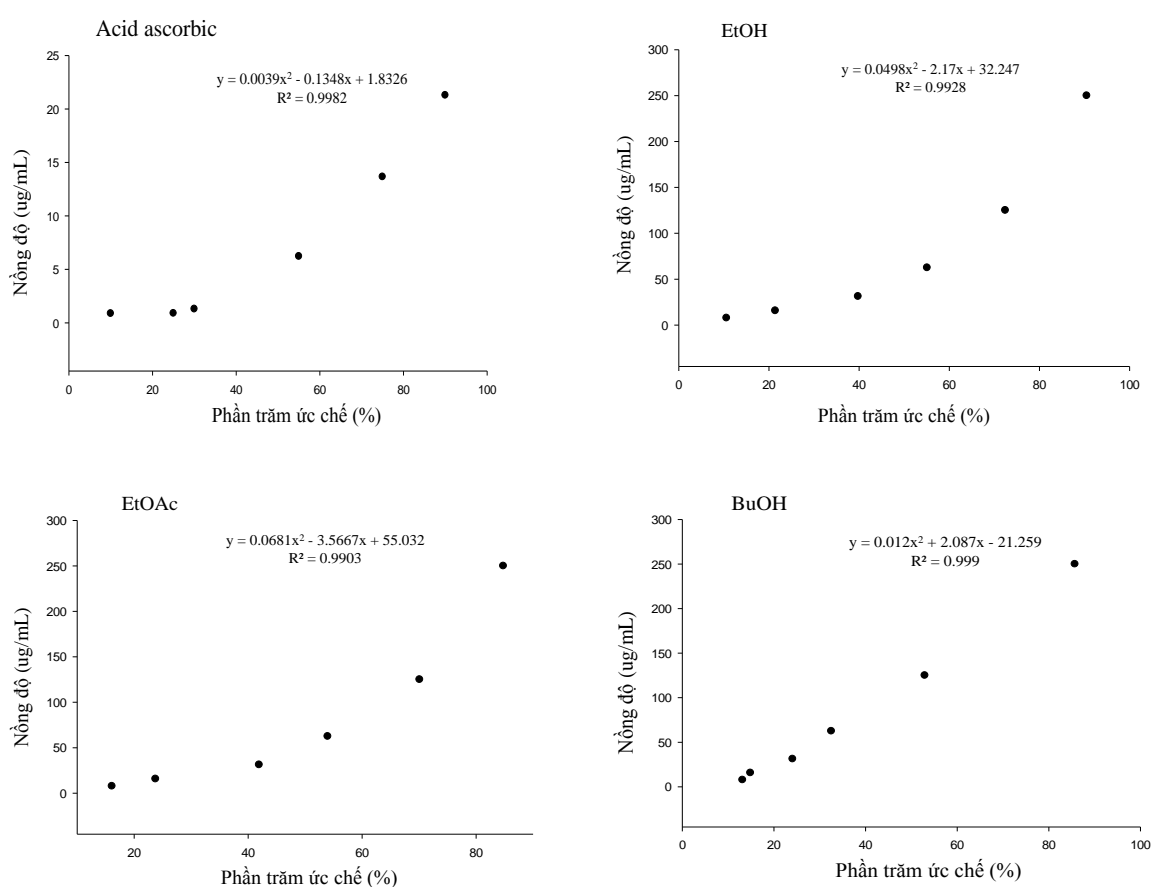
### 3.2. Tác dụng chống oxy hóa

Để đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn dịch chiết lá cây xạ đen, chúng tôi tiến

hành phương pháp DPPH và thu được kết quả như Bảng 2.

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

| Mẫu thử       | IC <sub>50</sub> (µg/mL) |
|---------------|--------------------------|
| Cao EtOH      | 48,5 ± 2,3               |
| EtOAc         | 46,9 ± 2,5               |
| BuOH          | 113,2 ± 2,9              |
| Acid ascorbic | 4,8 ± 0,3                |



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

Từ Bảng 2 và Hình 1, ta thấy phân đoạn EtOAc có tác dụng chống oxy hóa tốt nhất, IC<sub>50</sub> là 46,9 ± 2,5 µg/mL. Cao toàn phần EtOH cũng thể hiện tác dụng chống oxy hóa cao với IC<sub>50</sub> là 48,5 ± 2,2 µg/mL. Phân đoạn BuOH thể hiện tác

dụng chống oxy hóa yếu với IC<sub>50</sub> thu được là 113,2 ± 2,9 µg/mL. Song song với mẫu chứng là acid ascorbic thu được giá trị IC<sub>50</sub> là 4,8 ± 0,3 µg/mL.

#### 4. Bàn luận

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

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

có kết quả tương tự nghiên cứu của chúng tôi. Tác giả Trần Đức Việt chỉ ra được phân đoạn ethylacetate có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất ( $IC_{50}$  là  $53,38 \pm 0,98 \mu\text{g/mL}$ ) so với các chiết xuất khác, dịch chiết nước  $IC_{50}$  là  $108,22 \pm 0,48 \mu\text{g/mL}$ , trong khi chiết xuất hexane không cho thấy bất kỳ hoạt động chống oxy hóa nào [13]. Các tác giả đến từ Đại học Quốc gia Chung-nam, Hàn Quốc đã nghiên cứu sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa của các cây thuốc tại Việt Nam. Trong đó, có kết quả chỉ ra rằng cây xạ đen có tác dụng ức chế quét gốc tự do DPPH với  $IC_{50}$  là  $32,3 \mu\text{g/mL}$  [8]. Tác giả Lý Ngọc Trâm cùng các cộng sự của mình đã nghiên cứu phân lập ra được các hợp chất polyphenol trong lá cây xạ đen có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm... [11, 14].

#### 5. Kết luận

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

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Ministry of health, General oncology. 2009: Vietnam Education Publishing House Limited Company, 9-10.
- [2] N.V. Tuyen, Pharmaceutical chemistry curriculum, 2014, Science and Technics Publishing House. 222-223.
- [3] V.V. Chi. Dictionary of Vietnamese medicinal plants. Medical Publishing House 1 (2012).
- [4] V. Gan, G. Chen, W. Zhang, J. Zhou . Oleanen induces apoptosis of cervical cancer cells by up-

- regulation of Bim. International Journal of Gynecologic Cancer 22(1) (2012) 38.
- [5] Y.H. Kuo, L.M.Y. Kuo. Antitumour and anti-AIDS triterpenes from *Celastrus hindsii*. Phytochemistry 44(7) (1997) 1275.
- [6] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays 65(1-2) (1983) 55.
- [7] P. Mahakunakorn, M. Tohda, Y. Murakami, K. Matsumoto, H.J.B. Watanabe, P. Bulletin, Antioxidant and free radical-scavenging activity of Choto-san and its related constituents 27(1) (2004) 38.
- [8] P.T. Thuong, M.K. Na, N.H. Dang, T.M. Hung, P.T. Ky, T.V. Thanh, et al. Antioxidant activities of Vietnamese medicinal plants 12(1) (2006) 29.
- [9] X.Q. Hu, W. Han, Z.Z. Han, Q.X. Li, X.K. Xu, P. Fu, et al. A new macrocyclic lactone and a new quinoflavan from *Celastrus hindsii*. Phytochemistry letters 7 (2014) 169.
- [10] A.C. Spivey, M. Weston, Woodhead SJCSR. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis 31(1) (2002) 43.
- [11] T.L. Ngoc, Technology. Separation process of rosmarinic acid and their derivatives from *Celastrus hindsii* benth leaves. Vietnam Journal of Science 54(2C) (2016) 380.
- [12] F.R. Mowsumi, A. Rahaman, N.C. Sarker, B.K. Choudhury, Hossain SJWJPPS. In vitro relative free radical scavenging effects of *Calocybe indica* (milky oyster) and *Pleurotus djamor* (pink oyster). 4(07) (2015).
- [13] T.D. Viet, T.D. Xuan, T.M. Van, Y. Andriana, R. Rayee, H.D. Tran. Comprehensive Fractionation of Antioxidants and GC-MS and ESI-MS Fingerprints of *Celastrus hindsii* Leaves. Medicines 6(2) (2019) 64.
- [14] T.N. Ly, M. Shimoyamada, Yamauchi RJJo, chemistry f. Isolation and characterization of rosmarinic acid oligomers in *Celastrus hindsii* Benth leaves and their antioxidative activity 54(11) (2006) 3786.