

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.124

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM HẠI CÂY TRỒNG CỦA PHẦN RỄ CÂY XUYÊN KHUNG (*Ligusticum wallichii*, Apiaceae)

Lê Thế Tâm¹, Nguyễn Hữu Tùng², Nguyễn Ngọc Hiếu², Phạm Trung Hiếu³, Đỗ Thị Kim Loan⁴, Nguyễn Cường Quốc⁵, Trần Quang Đệ^{5*} và Lê Đăng Quang^{3,6*}

¹Viện công nghệ hóa sinh và Môi trường, Trường Đại học Vinh

²Khoa Dược, Trường Đại học Phenikaa

³Trung tâm Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp

⁵Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

⁶Viện Kỹ thuật Nhiệt Đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

* Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lê Đăng Quang (email: ledangquang2011@gmail.com);

Trần Quang Đệ (email: tqde@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 29/04/2022

Ngày nhận bài sửa: 20/05/2022

Ngày duyệt đăng: 06/06/2022

Title:

Constituents and antifungal potential of *Ligusticum wallichii* Franch. roots against plant pathogenic fungi

Từ khóa:

Ferulic acid, HPLC, kháng nấm, *Ligusticum wallichii*, Z-lingustilide

Keywords:

Antifungal, ferulic acid, HPLC, *Ligusticum wallichii*, Z-lingustilide

ABSTRACT

Ligusticum wallichii belonging to Apiaceae family have been widely used in traditional Chinese medicine, Vietnamese and Korean folk medicine for preventing anemia, and treatment of migraine and cardiovascular conditions. In addition, it inhibits human pathogenic bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhoid* and *Cholera sp.*. This study aims to determine the contents of essential oil, extracts, Z-lingustilide, and ferulic acid in 15 samples of cultivated *Ligusticum* and to test for antifungal activity of the species. The essential oil contents varied from 0.20 to 0.32%. The contents of organic solvent extracts were from 7.52 to 18.45%. Through HPLC analysis, the Z-lingustilide contents were determined in a range of 216.18–527.41 µg/g (w/dw) and the ferulic acid contents were from 119.45 to 501.57 µg/g (w/dw). The crude extracts and essential oils exhibited a relatively strong in vitro activity against fungi *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, and *Colletotrichum gloeosporioides*. The in vitro results also showed that the ethyl acetate extract possesses the strongest activity against all of the tested fungi.

TÓM TẮT

Ligusticum wallichii thuộc họ Apiaceae, được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền Trung Quốc, Việt Nam và Hàn Quốc để ngăn ngừa thiếu máu, điều trị chứng đau nửa đầu và các bệnh về tim mạch. Ngoài ra, nó còn ức chế các vi khuẩn gây bệnh ở người như *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhoid* và *Cholera sp.*. Qua nghiên cứu này, hàm lượng tinh dầu, các chất chiết xuất, Z-lingustilide và ferulic acid trong 15 mẫu *Ligusticum* được trồng và xác định hoạt tính kháng nấm của loài *Ligusticum*. Hàm lượng tinh dầu thay đổi từ 0,20 đến 0,32%. Hàm lượng cao chiết bằng dung môi hữu cơ từ 7,52 đến 18,45%. Thông qua phân tích định lượng HPLC, hàm lượng Z-lingustilide được xác định khoảng 216,18–527,41 µg/g (w/dw) và hàm lượng ferulic acid từ 119,45 đến 501,57 µg/g (w/dw). Các cao chiết và tinh dầu thể hiện hoạt tính in vitro tương đối mạnh đối với nấm *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* và *Colletotrichum gloeosporioides*. Kết quả in vitro cũng cho thấy cao chiết ethyl acetate có hoạt tính mạnh nhất trên tất cả các loại nấm thử nghiệm.

1. GIỚI THIỆU

Xuyên khung có tên khoa học là *Ligusticum wallichii*, là một loài thực vật có hoa thuộc họ Hoa tán (*Apiaceae*). Đây là loài cây có nguồn gốc từ vùng Hoa Bắc (Trung Quốc) và được di thực vào Việt Nam. Ở Việt Nam, xuyên khung thường được tìm thấy nhiều ở Hưng Yên, Tam Đảo và Lào Cai. Chúng thường mọc ở các sườn núi, đồi râm mát, có độ cao 1500-3700 m so với mực nước biển. Đây là một loài thảo mộc, thân mọc thẳng, giữa ruột rỗng, mặt ngoài thân có các đường gân dọc. Nó đã được sử dụng hàng ngàn năm trong y học truyền thống Trung Quốc, Nhật Bản và Hàn Quốc (Chinese Pharmacopoeia, 2010).

Xuyên khung có vị cay, mùi nồng, tính ấm. Bộ phận được sử dụng để làm thuốc là rễ cây xuyên khung (Baowan, 2009). Theo Đông y, xuyên khung có tác dụng chữa kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau bụng, đầy trướng, nhức đầu, phong thấp. Nhiều sách cổ điển đã ghi lại, xuyên khung là thần dược trong chuyên trị các bệnh về đau đầu (Pu et al., 2020). theo các nghiên cứu, thành phần hóa học chủ yếu của xuyên khung là các alkaloid bay hơi và tinh dầu, bao gồm các hoạt chất chính như: ferulic acid, senkyunolide, ligustilide,... Nhiều đơn hợp chất chiết xuất từ xuyên khung được phát hiện với các tác dụng dược lý khác nhau trên các cơ quan và hệ thống như não, máu, tim mạch và thần kinh; chống oxy hóa, bảo vệ tế bào thần kinh, chống viêm và chống ung thư (Du et al., 2016). Cụ thể, qua một số nghiên cứu, xuyên khung có tác dụng điều trị đau đầu, đau khớp do phong thấp, đột quỵ do thiếu máu não cục bộ, cơ tim thiếu máu cục bộ, điều hòa rối loạn kinh nguyệt, kích hoạt tuần hoàn máu, và các bệnh tim mạch và mạch máu não khác (Baowan, 2009). Tinh dầu xuyên khung có một số hoạt tính dược lý như an thần, hạ sốt, tất cả những lợi ích này đã được minh chứng qua các nghiên cứu thực nghiệm *in vivo* và đã được sử dụng như thuốc (Ran et al., 2011).

Trong nghiên cứu này, một số thông số trong cây xuyên khung đã được xác định như: hàm lượng tinh dầu, hàm lượng cao chiết, hàm lượng của Z-ligustilide và ferulic acid, đồng thời hoạt tính kháng nấm của tinh dầu và cao chiết xuyên khung cũng được khảo sát.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu được sử dụng là các mẫu xuyên khung được trồng ở tỉnh Lào Cai, Việt Nam (năm 2020).

Các chủng nấm được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: *Fusarium oxysporum* (gây bệnh héo rũ chết vàng), *Sclerotium rolfsii* (gây bệnh héo rũ gốc mốc trắng, thối thân) và *Colletotrichum gloeosporioides* (gây bệnh thán thư). Những chủng nấm này được tách ra từ phần thực vật bị bệnh và nuôi cấy trong phòng thí nghiệm của Viện Bảo vệ thực vật.

2.2. Xác định hàm lượng tinh dầu và cao chiết mẫu xuyên khung

2.2.1. Xác định hàm lượng tinh dầu

15 mẫu xuyên khung được chuẩn bị theo khối lượng quy định, cân chính xác đến 0,01 g. 1ml xylen được cho vào nhánh bên của dụng cụ chưng cất. Phần mẫu nguyên liệu cần chưng cất tinh dầu được chuyển vào bình cầu, rồi nối lại bình cầu với hệ cleverger và sinh hàn ngưng tụ. Tốc độ chưng cất được gia nhiệt và điều chỉnh đến 2 mL/phút hoặc 3 mL/phút. Mỗi mẫu được tiếp tục chưng cất trong 6 giờ. Khi kết thúc chưng cất, tắt nhiệt, mẫu được để nguội. Sau 10 phút, thể tích của pha hữu cơ (hỗn hợp của dầu dễ bay hơi và xylen) thu được trong ống đong (TCVN 7039, 2013) được ghi nhận.

2.2.2. Xác định hàm lượng chất chiết được

Bốn gram bột xuyên khung có cỡ bột thô được cân và cho vào trong bình nón 250 mL. Các dung môi methanol, *n*-hexane, acetone, ethanol và ethyl acetate được chiết để thu được các cao chiết tương ứng. 100 mL dung môi được cho vào bình chiết, ngâm lạnh. Dung môi được lắc thỉnh thoảng trong 6 giờ đầu, sau đó để yên trong 18 giờ. Dung môi được lọc qua phễu lọc khô vào 1 bình hứng khô thích hợp. 20 mL dịch lọc được lấy chính xác cho vào một cốc thủy tinh đã cân bị trước, cô quay đến khô. Cặn được sấy ở 105°C trong 3 giờ. Sau đó, chúng được lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30. Khối lượng cặn sau khi sấy được cân nhanh để xác định và tính phần trăm lượng chất chiết được theo vật chất khô (VCK) (Hội đồng Dược điển Việt Nam, 2018).

2.3. Xác định hàm lượng Z-ligustilide và ferulic acid trong các mẫu Xuyên khung bằng phương pháp HPLC

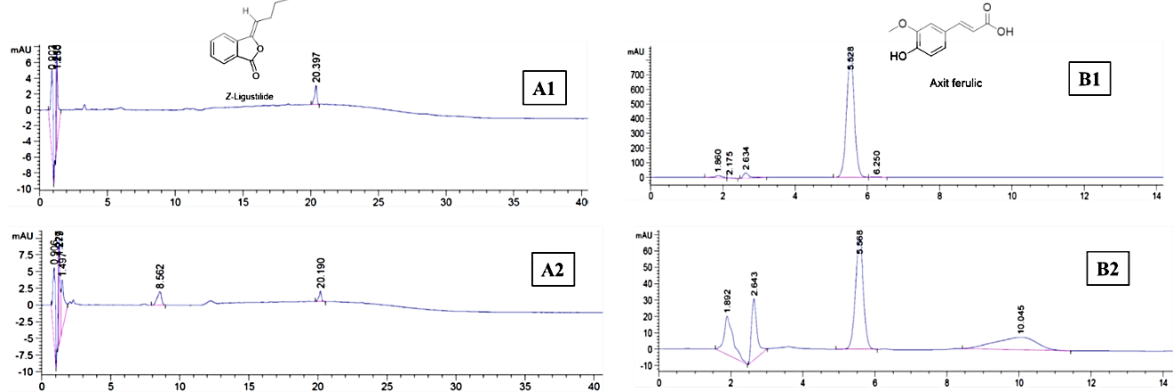
Mẫu chuẩn được chuẩn bị gồm: 2,7 mg chất Z-ligustilide đối chiếu, hoà tan với 1 mL MeOH được dung dịch có nồng độ 2,7 mg/mL.

Mẫu thử được chuẩn bị gồm: Các mẫu dược liệu được tán nhỏ, mỗi mẫu bột dược liệu cho vào bình Soxhlet là 2,0 g. Lượng MeOH được thêm vào là 200 mL và tiến hành chiết tới khi dịch chiết không còn màu. Dịch được lọc rồi thu hồi toàn bộ dịch

chiết, thu được cặn. Cặn được hòa tan lại bằng 20 mL MeOH và cho vào bình định mức 25 mL, rồi thêm MeOH đến vạch. Dung dịch tiêm sắc ký thu được qua màng lọc kích cỡ 0,45 μM (bộ 5 mL dịch lọc đầu).

Điều kiện chạy sắc ký được lựa chọn khảo sát: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 Infinity, cột sắc ký: Agilent Eclipse Plus C18 (φ 4,6 × 100 mm; cỡ hạt 3,5 μM), Detector DAD phát hiện ở bước sóng 320 nM, tốc độ dòng: 1,0 mL/phút, thể tích bơm mẫu: 10 μL, nhiệt độ: 25°C, dung môi pha mẫu: methanol, pha động: acetonitrile (kênh A) và sử dụng 1,0% acetic acid/H₂O (kênh B).

Sắc ký đồ HPLC thu được cho các pic của chất Z-ligustilide tách rõ ràng, sắc ký đồ (Hình 1) của các mẫu thử đều có pic, có thời gian lưu tương ứng với



Hình 1. Sắc ký đồ của Z-ligustilide (A1) và mẫu thử (A2), ferulic acid (B1) và mẫu thử (B2)

2.4. Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm của tinh dầu và cao chiết trong các mẫu xuyên khung

Hiệu quả kháng nấm của dầu nghệ được đánh giá trong điều kiện phòng thí nghiệm (*in vitro*): sử dụng phương pháp poisoned food technique. Hoạt tính kháng nấm được thử trên các đĩa thạch petri với môi trường PDA. Các chủng nấm đã phân lập và làm thuần được tiến hành đục vành ngoài bằng dụng cụ đục lỗ có đường kính 4 mm. Sau khi thực hiện, đường kính tán nấm sau đó được đặt lên môi trường PDA đã trộn với mẫu thử. Mẫu thử được hòa tan bằng Tween 0,05% và methanol 2% hoặc DMSO 2% ở các nồng độ thử nghiệm. Sau đó, mẫu thử được trộn vào môi trường PDA nóng chảy ở 50°C, đã khử trùng và để nguội. Mỗi nồng độ khác nhau sẽ được thử nhắc lại 3 lần trên môi trường PDA. Chủng nấm sau khi đưa lên trên thạch của đĩa petri được nuôi cấy ở nhiệt độ 25°C. Sự phát triển của nấm được theo dõi trong thời gian từ 1 đến 4 ngày. Sự hình thành và đo đường kính tán nấm được quan sát. Hiệu quả ức chế được tính theo công thức (1).

thời gian lưu ($t_R \sim 20$ phút) của chất ligustilide, nhiều nền thấp ở cả mẫu chuẩn và mẫu thử. Như vậy, có thể dùng các điều kiện sắc ký đã lựa chọn để phân tích định tính và định lượng chất Z-ligustilide trong dược liệu.

Thao tác được thực hiện tương tự để xác định hàm lượng acid ferulic. Sắc ký đồ HPLC thu được cho các peak của chất ferulic acid tách rõ ràng, sắc ký đồ (Hình 1) của các mẫu thử đều có peak, có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu ($t_R \sim 5$ phút) của chất ferulic acid, nhiều nền thấp ở cả mẫu chuẩn và mẫu thử. Như vậy, có thể dùng các điều kiện sắc ký đã lựa chọn để phân tích định tính, định lượng chất ferulic acid trong dược liệu. Trên cơ sở phương pháp phân tích đã xây dựng, các kết quả phân tích được ghi nhận như Hình 1.

$$C_V(\%) = 100 \times \frac{D_c - D_t}{D_c - 4} \quad (1)$$

Trong đó: D_c : đường kính tán nấm trên đĩa petri đối chứng; 4: đường kính khoanh agar-nấm, mm; D_t : đường kính tán nấm trên đĩa petri trộn mẫu thí nghiệm, mm.

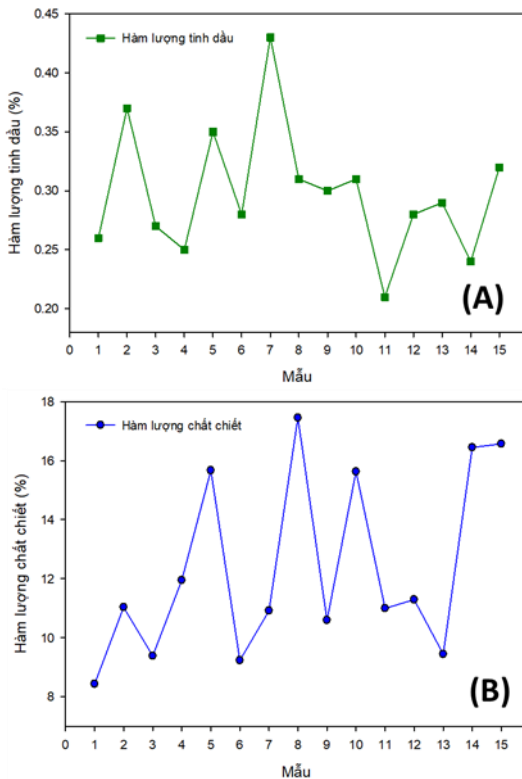
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng và hoạt tính kháng nấm của tinh dầu trong mẫu xuyên khung

3.1.1. Hàm lượng tinh dầu trong mẫu xuyên khung

Trong 15 mẫu xuyên khung được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng tinh dầu trung bình đạt $0,297 \pm 0,019\%$ (Hình 2). Trong đó, mẫu 7 có hàm lượng tinh dầu đạt cao nhất $0,43 \pm 0,04\%$, mẫu 11 có hàm lượng tinh dầu thấp nhất $0,21 \pm 0,02\%$. Theo Durić et al. (2020), cây xuyên khung ở Chicago có hàm lượng tinh dầu đạt 1,6% cao hơn nhiều so với hàm lượng tinh dầu trong cây xuyên khung trồng tại Lào Cai, Việt Nam.

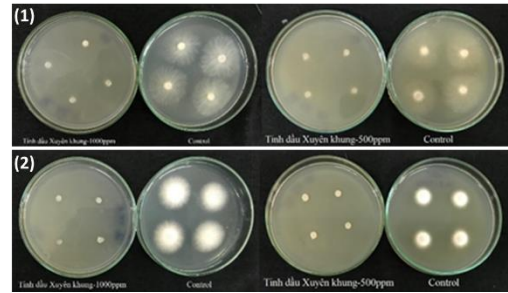
Trong 15 mẫu cây xuyên khung được phân tích nói trên, kết quả cho thấy hàm lượng chất chiết được trung bình đạt $12,334 \pm 0,429\%$ (Hình 2). Trong đó, mẫu 6 có hàm lượng chất chiết được thấp nhất đạt $9,23 \pm 0,11\%$, mẫu 2 có hàm lượng chất chiết được cao nhất đạt $17,45 \pm 0,55\%$. Hàm lượng này thấp hơn nhiều so với quy định trong Dược điển Việt Nam (2018) về hàm lượng chất chiết được trong rễ xuyên khung là không ít hơn 40,0% tính theo dược liệu khô kiệt.



Hình 2. Hàm lượng tinh dầu (A) và chất chiết được bằng dung môi ethanol (B) trong các mẫu xuyên khung

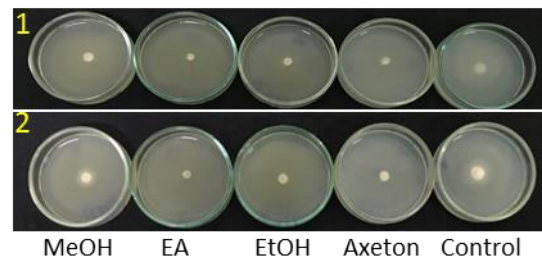
3.1.2. Hoạt tính kháng nấm của tinh dầu và cao chiết trong mẫu xuyên khung

Hoạt tính kháng nấm *F. oxysporum*, *S. rolfisii* của tinh dầu và cao chiết từ xuyên khung được tiến hành nghiên cứu. Kết quả cho thấy tất cả các mẫu cao chiết tại nồng độ 1000 ppm ức chế tương đối tốt sự phát triển của ba chủng nấm *F. oxysporum* và *S. rolfisii* (Hình 3 và Hình 4).



Hình 3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *S. rolfisii* (1) và *F. oxysporum* (2) của tinh dầu xuyên khung tại 500 và 1000 ppm sau 2 ngày thí nghiệm

Control: đối chứng



Hình 4. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *S. rolfisii* (1) và *F. oxysporum* (2) cao chiết từ xuyên khung tại nồng độ 1000 ppm sau 2 ngày thí nghiệm

(MeOH: cao chiết methanol; EA: cao chiết ethyl acetate; EtOH: cao chiết ethanol; Acetone: cao chiết acetone; Control: đối chứng)

Hiệu quả ức chế ở nồng độ 1000 ppm của cao chiết xuyên khung được tiến hành nghiên cứu với 3 nấm *Fusarium oxysporum* (FOAH), *Sclerotium rolfisii* (SR-BV) và *Colletotrichum gloeosporioides* (COK). Kết quả cho thấy (Bảng 1), tinh dầu và cao chiết đương quy thể hiện hiệu quả ức chế tốt nhất với SR-BV sau 2 đến 4 ngày nuôi cấy, FOAH và COK cho hiệu quả ức chế thấp hơn so với SR-BV. Trong đó, cao chiết EA cho hiệu quả ức chế cao nhất với tất cả các chủng nấm, đạt 100%, 89,33% và 89,33% với lần lượt các chủng nấm SR-BV, FOAH, COK sau 2 ngày nuôi cấy.

3.2. Hàm lượng Z-ligustilide trong mẫu xuyên khung

Hàm lượng Z-ligustilide trong mẫu đương quy được xác định bằng phương pháp sắc ký HPLC. Đây là một phương pháp quan trọng trong việc xác định hàm lượng và từ đó đánh giá chất lượng của mẫu cần phân tích. Kết quả thu được thể hiện trong Z-ligustilide có trong tinh dầu của xuyên khung. Dựa

vào kết quả của nghiên cứu, hoạt chất này có hoạt tính sinh học, thêm vào đó, theo các nghiên cứu dược lý hiện đại, Z-ligustilide có tác dụng chống ung thư, chống viêm, chống độc, và bảo vệ thần kinh (Qingxuan et al.,2020).

Trong 15 mẫu xuyên khung được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng Z-ligustilide trung bình là $419,888 \pm 16,946 \mu\text{g/g}$ (VCK) (Hình 5). Trong đó,

mẫu 7 có hàm lượng Z-ligustilide thấp nhất đạt $216,18 \pm 79,14 \mu\text{g/g}$ (VCK), mẫu 10 có hàm lượng Z-ligustilide cao nhất đạt $527,41 \pm 25,01 \mu\text{g/g}$ (VCK). Theo báo cáo của Đurić et al. (2020), hàm lượng Z-ligustilide trồng tại Chicago đạt $110 \mu\text{g/g}$ (VCK), thấp hơn nhiều so với hàm lượng Z-ligustilide trồng tại Lào Cai, Việt Nam. Từ đó cho thấy, xuyên khung trồng tại Việt Nam có thể mạnh về hoạt chất và có thể đây là ưu điểm của giống.

Bảng 1. Hiệu quả ức chế nấm hại cây trồng của tinh dầu và cao chiết từ xuyên khung

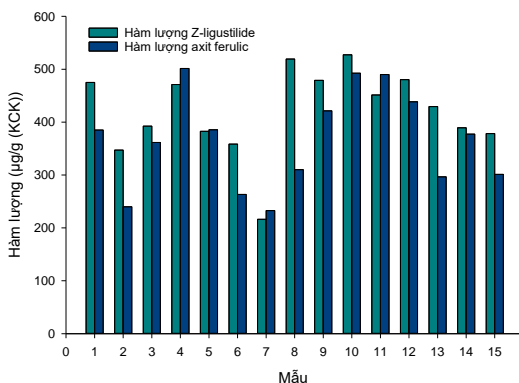
Nồng độ thử nghiệm (1000 ppm)	SR-BV ^a		FOAH		COK	
	2 DAT	3DAT	2DAT	4 DAT	2DAT	4 DAT
Tinh dầu xuyên khung	100	100	100	96,28	100	97,03
Cao chiết methanol	83,06	80,95	37,64	26,10	37,64	26,10
Cao chiết ethyl acetate	100	100	89,33	85,79	89,33	85,79
Cao chiết ethanol	97,98	93,61	62,08	50,66	62,08	50,66
Cao chiết acetone	100	96,32	73,03	68,50	73,03	68,50

^aSR-BV: *S. rolfisii*; FOAH: *F. oxysporum*; COK: *C. gloeosporioides*

3.3. Hàm lượng ferulic acid trong mẫu xuyên khung

Tương tự Z-ligustilide, hàm lượng ferulic acid trong mẫu xuyên khung được xác định bằng phương pháp sắc ký HPLC. Kết quả thu được thể hiện trong Hình 5. Ferulic acid đã được báo cáo là có khả năng ức chế sự co mạch do thuốc co mạch gây ra, do đó, chúng có hiệu quả trong điều trị các triệu chứng có thất liên quan đến bệnh về tim mạch (Yuwei et al., 2016).

Trong 15 mẫu xuyên khung được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng ferulic acid trung bình đạt $366,531 \pm 12,635 \mu\text{g/g}$ (VCK) (Hình 5). Trong đó, mẫu 7 có hàm lượng ferulic acid thấp nhất đạt $232,68 \pm 16,09 \mu\text{g/g}$ (VCK), mẫu 4 có hàm lượng ferulic acid cao nhất đạt $501,57 \pm 6,09 \mu\text{g/g}$ (VCK).



Hình 5. Hàm lượng Z-ligustilide và ferulic acid trong các mẫu xuyên khung được xác định hàm lượng bằng phương pháp HPLC

4. KẾT LUẬN

Khảo sát hàm lượng và thành phần hoạt chất của cây xuyên khung giúp đánh giá chính xác mẫu dược liệu. Kết quả này tạo cơ sở cho những nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học của cây xuyên khung và phương pháp canh tác để cải thiện chất lượng cây xuyên khung. Kết quả khảo sát 15 mẫu xuyên khung thu hái ở tỉnh Lào Cai, Việt Nam cho thấy các mẫu đều chứa Z-ligustilide và ferulic acid. Đây là hai thành phần quan trọng tạo nên tác dụng dược lý trong điều trị các bệnh về thiếu máu, huyết áp cao, tim mạch, chống viêm và chống độc. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng nấm cho thấy tinh dầu và cao chiết xuyên khung có khả năng ức chế mạnh đối với *F. oxysporum* (FOAH), *S. rolfisii* (SR-BV) và *C. gloeosporioides* (COK) tại 1000 ppm. Tinh dầu xuyên khung có hoạt tính mạnh nhất so với các cao chiết. Cao chiết ethyl acetate thể hiện hoạt tính kháng nấm tới 100% trong vùng nồng độ thử nghiệm. Kết quả nghiên cứu đã đóng góp vào giá trị sử dụng mới về hoạt tính kháng nấm của cây xuyên khung.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với mã số đề tài GUST.STS.ĐT2020-HH15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baowan, L. (2009). Integrating Comprehensive and Alternative Medicine into Stroke: Herbal Treatment of Ischemia. In R.W. Ronald (Eds.), *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population* (pp. 229-274). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374228-5.00012-3>
- Chinese Pharmacopoeia. (2010). Chemical Industry Press: Beijing, China. 1.
- Du, J. C., Xie, X. F., Xiong, L., Sun, C., & Peng, C. (2016). Research progress of chemical constituents and pharmacological activities of essential oil of *Ligusticum chuanxiong*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 41(23), 4328-4333.
- Durić, K., Nikšić, H., Muratović, S., Gušić, I., & Korić, E. (2020). Qualitative and quantitative determination of ligustilide as bioactive marker in apiaceous botanicals. *Original Scientific Article*, 7, 7-12.
- Hội đồng Dược điển Việt Nam. (2018). *Dược điển Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.
- Pu, Z. H., Dai, M., Xiong, L., & Peng, C. (2020). Total alkaloids from the rhizomes of *Ligusticum striatum*: a review of chemical analysis and pharmacological activities. *Natural Product Research*, 1-18. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1830398>
- Qingxuan, X., Linlin, Z., Long, X., Yu, Z., Kai, L., Hailong, T., Yanmei, L., & Xiaofang, L. (2020). Z-Ligustilide: A review of its pharmacokinetics and pharmacolog. *Phytotherapy Research*, 1-26.
- Ran, X., Ma, L., Peng, C., Zhang, H., & Qin, L. P. (2011). *Ligusticum chuanxiong* Hort: a review of chemistry and pharmacology. *Pharmaceutical Biology*, 49(11), 1180-1189. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.576346>
- TCVN 7039:2013. (2013). Determination of volatile oil content (hydrodistillation method).
- Yuwei, P., Guoping, Z., Zejian, C., Fengguo, C., Dandan, X., Si, H., Hai, L., & Yi, T. (2016). Synergistic effect of ferulic acid and Z-ligustilide, major components of *A. sinensis*, on regulating cold-sensing protein TRPM8 and TPRA1 *in vitro*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 3160247. <https://doi.org/10.1155/2016/3160247>