

## NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG OXI HÓA CỦA CAO CHIẾT ETHANOL HẠT XAY NHUNG *IN VITRO*

Nguyễn Trung Quân<sup>(1)</sup>, Hoàng Thành Chí<sup>(2)</sup>

(1) Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP HCM; (2) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài: 29/3/2022; Ngày phản biện: 30/3/2022; Chấp nhận đăng: 30/5/2022

Liên hệ Email: [chiht@tdmu.edu.vn](mailto:chiht@tdmu.edu.vn)

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2022.03.305>

---

### Tóm tắt

Xay nhung (*Dialium cochinchinensis* Pierre), là một trong số 10 loài *Dialium* phân bố tại Đông Nam Á và xuất hiện duy nhất ở Việt Nam. Xay nhung cung cấp gỗ loại một và đã được đưa vào sách đỏ Việt Nam phục vụ cho công tác bảo tồn. Mặc dù được sử dụng như thực phẩm, dược phẩm trong các bài thuốc dân gian từ lâu, song đây vẫn là đối tượng mới trong công tác nghiên cứu khoa học và hiện có rất ít dữ liệu khoa học về loài cây này. Việc cung cấp các bằng chứng khoa học xác thực giúp định hướng phát triển nghiên cứu, ứng dụng và bảo tồn loài cây này hợp lý hơn. Trong nghiên cứu này, khả năng kháng oxi hoá của cao chiết ethanol của hạt xay nhung đã được khảo sát bằng các phương pháp DPPH, ABTS và PFRAP. Kết quả cho thấy cao chiết từ hạt xay nhung có hoạt tính kháng oxi hoá mạnh thông qua khả năng trung hòa gốc điện tử tự do DPPH và ABTS\* ở mức EC50 lần lượt là  $33,60 \pm 1,66$  và  $140 \pm 7,47$  ( $\mu\text{g/ml}$ ). Năng lực khử của cao chiết hạt xay nhung cũng thể hiện thông qua việc khử  $\text{Fe}^{3+}$  thành  $\text{Fe}^{2+}$  trong phức potassium ferrocyanide phụ thuộc vào nồng độ tác dụng.

**Từ khóa:** ABTS, *Dialium cochinchinensis*, DPPH, kháng oxi hoá, năng lực khử

### AN IN VITRO INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIALIUM COCHINCHINENSIS PIERRE'S ETHANOL EXTRACT

### Abstract

*Dialium cochinchinensis* Pierre is one of ten *Dialium* species found in Southeast Asia, and it is only found in Vietnam. Velvet grinding produces high-quality wood and has been listed in the Vietnam Red Book for conservation. Despite the fact that it has long been used as food and medicine in folk remedies, it is still a new object in scientific research, with very little scientific data on this plant. The provision of genuine scientific evidence aids in more rationally orienting research, development, application, and conservation of this plant. The antioxidant capacity of an ethanol extract of velvet seed was investigated using the DPPH, ABTS, and PFRAP methods in this study. The extract from ground velvet seeds demonstrated strong antioxidant activity by neutralizing DPPH and ABTS\* free radicals at EC50 levels of  $33,60 \pm 1,66\mu\text{g/ml}$  and  $140 \pm 7,47\mu\text{g/ml}$ , respectively. The velvet seed

*extract's reducing power was also demonstrated by the reduction of  $Fe^{3+}$  to  $Fe^{2+}$  in the potassium ferrocyanide complex, depending on the concentration of action.*

---

## 1. Đặt vấn đề

Những năm cuối thế kỷ thứ 19, thuật ngữ kháng oxi hoá lần đầu tiên được sử dụng để chỉ các hoá chất có khả năng giúp kim loại chống bị ăn mòn cũng như chống sự oxi hoá các loại thực phẩm khác, ngày nay thuật ngữ này được cụ thể hoá trong lĩnh vực sinh học tế bào nhằm chỉ các nhóm chất có khả năng cho điện tử trong các phản ứng oxi hoá nội bào từ đó hình thành lá chắn bảo vệ tế bào khỏi các tác nhân oxi hoá tự do (Lobo và *nnk.*, 2010). Trong trạng thái bình thường, sự cân bằng oxi hoá nội mô được duy trì bởi hệ thống enzyme kháng oxi hoá, tuy nhiên khi xảy ra những bất thường trong cơ thể như nhiễm trùng, sốt, nhiễm độc tố hay hoạt động quá mức gây ra các tổn thương ở cấp độ mô và tế bào dẫn đến sự tăng tiết các enzyme đáp ứng nhanh như xanthine oxidase, lipogenase, cyclooxygenase, kích hoạt đại thực bào, giải phóng ion đồng, sắt, làm phá vỡ chuỗi truyền điện tử từ đó gây ra sự bùng phát mạnh mẽ các gốc tự do phá vỡ thể cân bằng oxi hoá – khử dẫn tới hiện tượng stress oxi hóa (Lobo và *nnk.*, 2010). Stress oxi hoá là hiện tượng cực đoan do sự hoạt động mạnh của các gốc oxi hoá tự do từ đó gây ra nhiều tác động tiêu cực thông qua việc cạnh tranh điện tử với nhiều thành phần khác nhau của tế bào, sự mất đi điện tử gây ảnh hưởng lên cấu trúc và hoạt động của hệ thống protein, nucleic acid và nhiều thành phần quan trọng khác bên trong nội bào hoặc bên trên màng tế bào là bệnh sinh của nhiều bệnh lý nghiêm trọng bao gồm cả tự miễn và khởi phát ung thư (Lobo và *nnk.*, 2010; Pizzino và *nnk.*, 2017). Nhằm đáp ứng với hoạt động của các gốc oxi hoá tự do nhiều enzyme có tính khử được tổng hợp để đảm bảo duy trì cân bằng oxi hoá – khử như superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) và catalase (CAT), ngoài ra một số thành phần enzyme kháng oxi hóa ít phổ biến hơn cũng tham gia quá trình bao gồm heme oxygenase-1 và một số protein có tính khử bao gồm thioredoxin, peroxiredoxin và glutaredoxin (Birben và *nnk.*, 2012; Harman, 1956). Ngoài nhóm enzyme nêu trên, các thành phần kháng oxi hoá khác có kích thước nhỏ cũng tham gia và đóng vai trò quan trọng vào quá trình cân bằng thể oxi hoá – khử và chúng được xếp vào nhóm các hợp chất kháng oxi hoá không phải enzyme hay gọi tắt là hợp chất kháng oxi hoá (Birben và *nnk.*, 2012). Các hợp chất kháng oxi hoá này thường không do tổng hợp mà được thu nhận vào tế bào như vitamin C, carotenoid, polyphenols và nhiều hợp chất thứ cấp có nguồn gốc thực vật khác (Lobo và *nnk.*, 2010; Selamoglu và *nnk.*, 2018). Nhiều hoạt chất kháng oxi hoá có nguồn gốc từ thực vật đã và đang được sử dụng trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe và làm đẹp của con người. Khả năng kháng oxi hoá từ cao chiết thực vật thể hiện tiềm năng phát triển nghiên cứu và ứng dụng của loài thực vật đó trong tương lai. Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát khả năng kháng oxi hoá của loài dược liệu đặc hữu đang thiếu dữ liệu nghiên cứu khoa học là hạt xay nhung (*Dialium cochinchinensis* Pierre) thông qua khả năng khử và khả năng trung hòa gốc oxi hoá tự do trên mô hình *in vitro* thông qua các thí nghiệm DPPH, ABTS và PFRAP.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Chuẩn bị cao chiết

Hạt xay nhung (*D. cochinchinensis* Pierre) thu nhận từ khu dự trữ sinh quyển Kon Chư Răng, Gia Lai, Tây Nguyên. Hạt được rửa sạch bằng nước cất và sấy khô hoàn toàn tới khối lượng không đổi thì nghiền thành bột khô. Dịch chiết còn 96° được chuẩn bị bằng phương pháp ngâm dầm tỉ lệ 1 bột : 10 dung môi trong 4 ngày sau đó lọc qua giấy lọc whattman. Cao chiết khô được thu nhận bằng phương pháp cô quay chân không, xác định khối lượng và hoà tan lại với ethanol để thu nhận dung dịch gốc nồng độ 150mg/ml để sử dụng cho đề tài.

### 2.2. Khảo sát khả năng trung hòa gốc tự do DPPH

DPPH là một gốc tự do điển hình khuyết 1 electron trên nguyên tử nitơ, được phát triển vào những năm 1950 bởi Blois và cộng sự, có hấp thụ quang phổ cực đại tại 517nm. DPPH có xu hướng nhận thêm điện tử để đạt trạng thái cân bằng đồng thời thay đổi độ hấp thụ quang phổ cực đại từ đó có thể đánh giá khả năng cho điện tử của mẫu khảo sát. Thí nghiệm được tiến hành như sau: 400µl dung dịch mẫu được cho tác dụng với 400µl dung dịch DPPH 0,3mM và ủ 30 phút ở 37°C. Hỗn hợp sau khi ủ được đo độ hấp thụ quang phổ tại 517nm. Quy trình được thực hiện trong điều kiện hạn chế ánh sáng do khả năng hấp thụ quang phổ của DPPH giảm mạnh khi tiếp xúc ánh sáng (B. Ozcelik và nnk, 2003). Dãy nồng độ được sử dụng nằm trong khoảng từ 0 đến 100µg/mL. Vitamin C được sử dụng là chứng dương của thí nghiệm.

### 2.3. Khảo sát khả năng thu nhận gốc ABTS\*

Gốc tự do ABTS lần đầu được mô tả và sử dụng trong khảo sát vào đầu những năm 1990 (Miller và nnk., 1993). Dưới tác dụng của muối potassium persulfate 7,4mM (3 lần thể tích,) ABTS 2,6mM được chuyển thành dạng ABTS\* oxi hoá và hấp thụ bước sóng cực đại ở 734nm sau 16h ủ tối. Dung dịch ABTS\* được hiệu chỉnh bằng nước để có độ hấp thụ quang phổ ở 734nm là  $1,0 \pm 0,02$ . Tiếp theo, 150µl dung dịch mẫu được phản ứng với 750µl dung dịch ABTS\* ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở 734nm. Dãy nồng độ được sử dụng nằm trong khoảng từ 0 đến 1000µg/mL. Vitamin C được sử dụng là chứng dương của thí nghiệm.

### 2.4. Khảo sát khả năng khử phức sắt (potassium ferricyanide reducing power – PFRAP)

Phương pháp giúp khảo sát khả năng khử của dịch chiết khi chuyển  $Fe^{3+}$  trong phân tử kali ferricyanid ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) thành  $Fe^{2+}$  trong potassium ferrocyanide ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) (Jayanthi và nnk., 2011). Sau đó, 1mL dung dịch mẫu được pha loãng trong 2,5mL PBS pH 6.6 và cho phản ứng với 2,5mL potassium ferricyanide 1% trong 20 phút ở 50°C. Hỗn hợp được bổ sung thêm 2,5mL Tricloacetic 10% và ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. 2,5mL dịch sau phản ứng được pha loãng cùng 2,5mL nước cất trước khi phản ứng với 0,5mL  $FeCl_3$  0,1% và đo độ hấp thụ quang phổ ở 700nm.

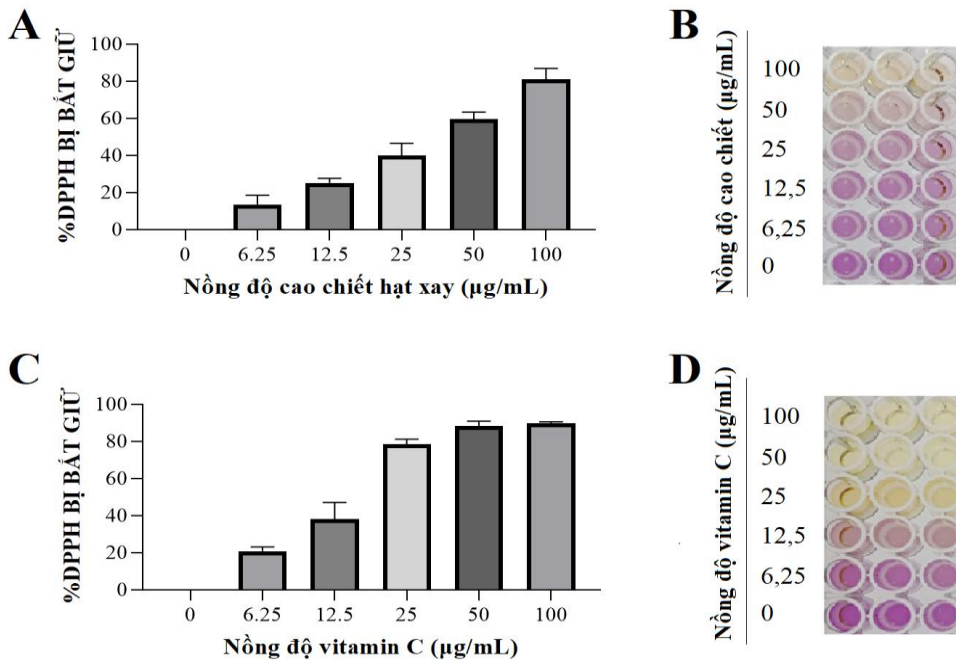
**2.5. Phương pháp phân tích số liệu**

Các thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp. Phương pháp hồi quy phi tuyến tính được tiến hành để xây dựng biểu diễn và xác định nồng độ hiệu quả tối đa một nửa (EC50) bằng phần mềm Graphpad Prism 9.0.0. Kết quả so sánh được tiến hành bằng kiểm định T-test với giá trị alpha là 0,05.

**3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận**

**3.1. Khả năng trung hòa gốc tự do của cao chiết hạt xay nhung**

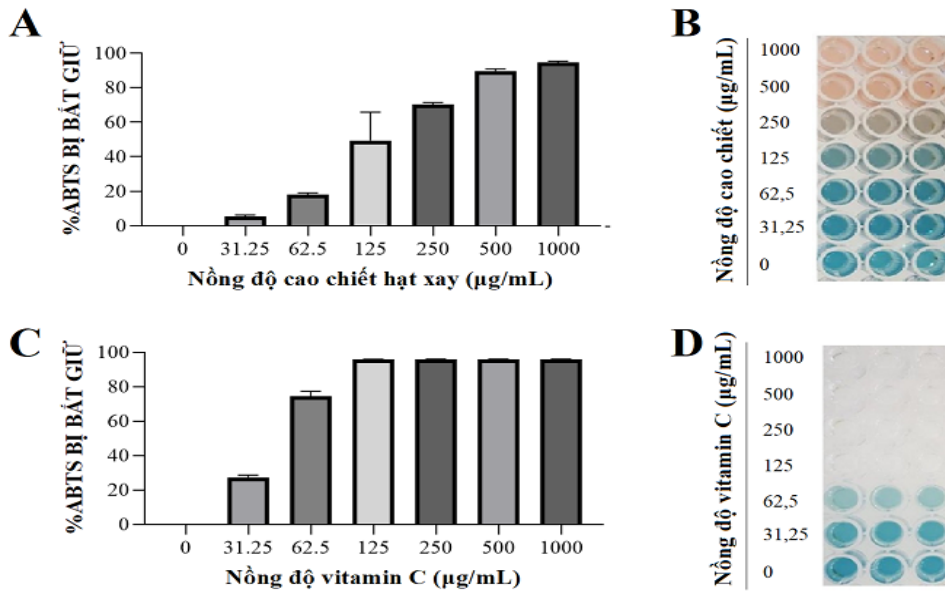
Kết quả thí nghiệm khả năng trung hòa gốc tự do được xác định bằng việc tính tỉ lệ phần trăm giữa hiệu số hấp thu quang phổ của mẫu thử và chứng âm trên chứng âm, đại diện cho tỷ lệ lượng gốc tự do bị bắt giữ. Nhờ sự đổi màu dung dịch khi cấu trúc gốc tự do nhận thêm điện tử (mất màu tím đối với DPPH (Hình 1B,D) và mất màu xanh đối với ABTS\* (Hình 2B,D) mà kết quả thí nghiệm được ghi nhận thông qua sự thay đổi trong giá trị quang phổ hấp thụ từ đó phản ánh khả năng cho điện tử của cao chiết (Sánchez-Moreno, 2002). Cao chiết hạt xay nhung thể hiện khả năng bắt giữ gốc oxi hoá tự do phụ thuộc vào nồng độ khi lượng gốc tự do DPPH và ABTS\* bị bắt tăng dần theo chiều tăng của nồng độ cao chiết.



**Hình 1.** Kết quả khả năng thu nhận gốc tự do của cao chiết hạt xay nhung: Biểu đồ phần trăm gốc tự do bị bắt giữ đối với DPPH dưới tác động của cao chiết hạt xay (A) và vitamin C (C); Sự thay đổi màu sắc cảm quan của thí nghiệm DPPH với cao chiết hạt xay (B) và vitamin C (D)

Với khả năng cung cấp 1-2 điện tử trực tiếp lên các phân tử oxi hoá, vitamin C đóng vai trò là một chất truyền điện tử trung gian linh hoạt và được sử dụng như chứng

dương trong thí nghiệm này (Paciolla và nnk., 2019). Tác dụng trung hòa gốc tự do của Vitamin C thể hiện mạnh hơn so với dịch chiết hạt xay và nhanh chóng đạt trạng thái bão hoà ở nồng độ nhỏ hơn 100 µg/ml trên cả hai gốc tự do là DPPH và ABTS\*, trong khi đó cao chiết hạt xay đạt trạng thái bão hoà này chậm hơn ở nồng độ khoảng 100µg/ml đối với DPPH và 500µg/ml đối với ABTS\*.



**Hình 2.** Kết quả khả năng thu nhận gốc tự do của cao chiết hạt xay nhưng: Biểu đồ phần trăm gốc tự do bị bắt giữ đối với ABTS\* dưới tác động của cao chiết hạt xay (A) và vitamin C (C); Sự thay đổi màu sắc cảm quan của thí nghiệm ABTS\* với cao chiết hạt xay (B) và vitamin C (D)

Bằng phương pháp hồi quy phi tuyến tính theo mô hình  $Y=100(X^{HillSlope})/(EC50^{HillSlope} + (X^{HillSlope}))$ , phương trình biểu diễn trong tác dụng của cao chiết hạt xay lên DPPH và ABTS\* lần lượt được xác định là  $Y = (100 \cdot X^{1.17})/(33.6^{1.17} + X^{1.17})$  với hệ số tương quan  $R^2 = 0.98$  và  $Y = (100 \cdot X^{1.68})/(140^{1.68} + X^{1.68})$  với  $R^2 = 0.98$ ; tương tự phương trình hồi quy của vitamin C lần lượt là  $Y = (100 \cdot X^{1.759})/(14.59^{1.759} + X^{1.759})$  với hệ số tương quan  $R^2 = 0.9736$  và  $Y = (100 \cdot X^{2.911})/(43.52^{2.911} + X^{2.911})$  với  $R^2 = 0.9943$ . Từ phương trình hồi quy được thiết lập bên trên, giá trị EC50 được xác định lần lượt cho vitamin C và cao chiết hạt xay trên hai loại gốc tự do được thống kê cụ thể trong Bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả hồi quy giá trị EC50 trong tác động trung hòa gốc tự do của cao chiết hạt xay và vitamin C

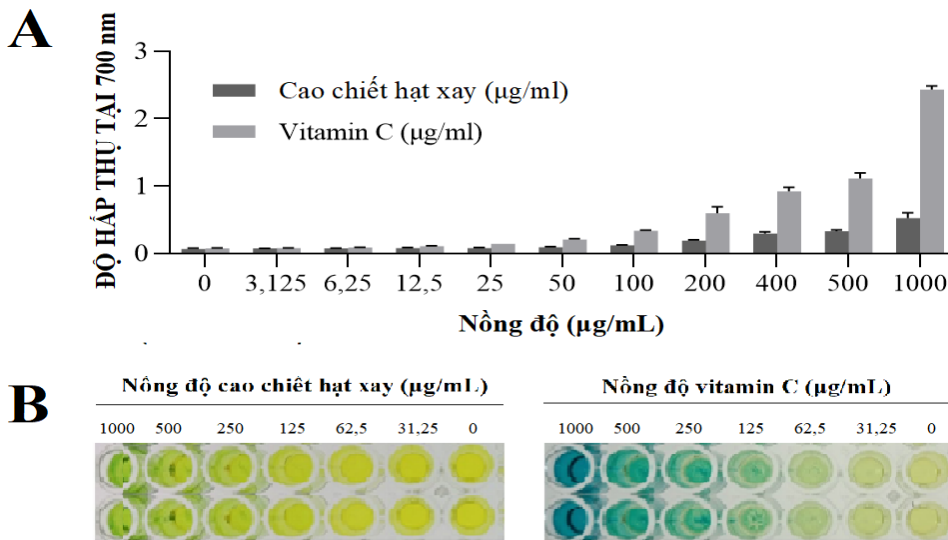
Giá trị EC50 (µg/ml)	Cao chiết hạt xay	Vitamin C
DPPH	33.60 ± 1.66	14.59 ± 0.80
ABTS*	140 ± 7.47	43.52 ± 0.90

Kết quả trung hòa các gốc oxi hoá tự do phản ánh khả năng kháng oxi hoá của dược liệu khảo sát (Alam và nnk., 2013). Từ các kết quả EC50 có thể thấy khả năng bắt giữ DPPH khá tốt của dịch chiết hạt xay và tương đương với một số sản phẩm kháng oxi hoá

trên thị trường như trà đen ( $IC_{50} = 45.10\mu\text{g/mL}$ ) (Pereira và *nnk.*, 2014) hay đông trùng hạ thảo *Cordyceps sinensis* ( $IC_{50} = 0.93\text{mg/mL}$  đối với sợi nấm nuôi cấy nhân tạo và  $IC_{50} = 1.23\text{mg/mL}$  đối với sợi nấm tự nhiên) (Dong và *nnk.*, 2008). Việc so sánh với thành viên cùng chi khác là *Dialium indum* L, cao chiết tổng số của hạt xay thể hiện khả năng thu nhặt gốc DPPH tốt hơn so với dịch chiết tổng số từ vỏ quả ( $IC_{50} = 127.63 \pm 2.48\mu\text{g/mL}$ ), thịt quả (không thể hiện khả năng) và hạt ( $IC_{50} = 99.95 \pm 0.98$ ) (Osman và *nnk.*, 2018). So với khả năng trung hòa gốc DPPH, khả năng trung hòa gốc ABTS\* của cao chiết hạt xay biểu hiện kém hiệu quả hơn với giá trị  $EC_{50}$  trên  $100\mu\text{g/mL}$ .

**3.2. Kết quả khảo sát năng lực khử của cao chiết hạt xay**

Dưới tác dụng của năng lực khử, nhân  $Fe^{3+}$  trong phân tử phân tử kali ferricyanid chuyển thành  $Fe^{2+}$  trong phức hợp sắt trung gian potassium ferrocyanide, phức hợp này sẽ tiếp tục được oxi hoá bằng  $Fe^{3+}$  để trở thành dạng dung dịch phức bền ferric ferrocyanide ( $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ ) có màu xanh lá (P. JAYANTHI và *nnk.*, 2011). Bằng việc kiểm tra sự hình thành ferric ferrocyanide sau quy trình bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ tại 700nm, năng lực khử của cao chiết sẽ gián tiếp được xác định. Khả năng khử góp phần phản ánh khả năng hoạt động kháng oxi hoá của dịch chiết khảo sát. Kết quả cho thấy ở nồng độ càng cao khả năng khử của cao chiết càng mạnh tuy nhiên khả năng khử được xem xét là thấp hơn nhiều so với đối chứng dương là vitamin C (Hình 3).



**Hình 3.** Kết quả khả năng khử của cao chiết hạt xay và vitamin C bằng phương pháp PFRAP: đường biểu diễn quang phổ hấp thụ (A) và sự thay đổi màu sắc cảm quan của thí nghiệm (B)

Kết quả cho thấy khả năng kháng oxi hoá đáng chú ý từ cao chiết hạt xay nhưng thông qua khả năng thu nhặt các gốc oxi hoá tự do trên mô hình *in vitro* với nồng độ  $EC_{50}$  nhỏ hơn  $50\mu\text{g/mL}$  cùng với khả năng lực khử tăng dần theo nồng độ. Đây là một trong những cơ sở khoa học đầu tiên về hoạt tính kháng oxi hoá của đối tượng nghiên cứu được công bố. Trước đây nhiều kết quả báo cáo cho thấy khả năng kháng oxi hoá mạnh đến từ

hạt của nhiều loại thực vật khác nhau như hạt nho (*Vitis vinifera*), đậu nành (*Glycin max*), hạt me (*Tamarindus indica*) và hạt cam thảo dây (*Abrus precatorius*) (Mehrotra và nnk., 2011; Waqas và nnk., 2013). Trong nghiên cứu trên quả của cây *Dialium indum* L, nhóm tác giả cũng ghi nhận được cao chiết thô methanol và phân đoạn methanol từ hạt cho thấy khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt nhất cũng như khả năng khử nôi bật trong thí nghiệm neocuproine khi so sánh với các bộ phận còn lại của quả (Osman và nnk., 2018). Khả năng kháng oxi hoá ghi nhận từ cao chiết hạt xay nhưng là nền tảng cần thiết cho các nghiên cứu ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm trong tương lai (Tungmunnithum và nnk., 2018; Zehiroglu và nnk., 2019).

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143-152.
- [2] B. Ozcelik, J.H. Lee, & Min, D. B. (2003). Effects of light, Oxygen, and pH on the Absorbance of 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of food science*, 68(2), 487-490.
- [3] Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*, 5(1), 9-19.
- [4] Dong, C. H., & Yao, Y.-J. (2008). *In vitro evaluation of antioxidant activities of aqueous extracts from natural and cultured mycelia of Cordyceps sinensis* (Vol. 41).
- [5] Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11(3), 298-300.
- [6] Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118-126.
- [7] Mehrotra, S., Jamwal, R., Shyam, R., Meena, D., Misra, K., Patra, R., . . . Nandi, S. (2011). Anti-Helicobacter pylori and antioxidant properties of Emblica officinalis pulp extract: A potential source for therapeutic use against gastric ulcer. *Journal of medicinal plant research*, 5, 2577-2583.
- [8] Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)*, 84(4), 407-412.
- [9] Osman, M. F., Mohd Hassan, N., Khatib, A., & Tolos, S. M. (2018). Antioxidant Activities of *Dialium indum* L. Fruit and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) of the Active Fractions. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 7(11), 154.
- [10] P. Jayanthi, & Lalitha, P. (2011). Reducing power of the solvent extracts of eichhornia crassipes (mart.) solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 126-128.
- [11] Paciolla, C., Fortunato, S., Dipierro, N., Paradiso, A., de leonardis, S., Mastropasqua, L., & de Pinto, M. (2019). Vitamin C in Plants: From Functions to Biofortification. *Antioxidants*, 8, 519.
- [12] Pereira V.P, Knor F.J, Velloso J.C.R, & F.L, B. (2014). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(3), 490-498.

- [13] Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., . . . Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 8416763-8416763.
- [14] Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121-137.
- [15] Selamoglu, Z., Amin, K., & Ugur Or Ozgen, S. (2018). *PLANT SECONDARY METABOLITES WITH ANTIOXIDANT PROPERTIES AND HUMAN HEALTH*. In (pp. 11).
- [16] Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines* (Basel, Switzerland), 5(3), 93.
- [17] Waqas, M. K., Saqib, N.-U., Rashid, S.-U., Shah, P. A., Akhtar, N., & Murtaza, G. (2013). Screening of various botanical extracts for antioxidant activity using DPPH free radical method. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 10(6), 452-455.
- [18] Zehiroglu, C., & Ozturk Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of food science and technology*, 56(11), 4757-4774.