



DETAILED STUDY OF PIPER SARMENTOSUM TO TREAT OSTEOARTHRITIS DISEASE

Pham Thu Hue^{1,*}, Nguyen Van Binh¹, Pham Thi Phuong¹

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam

*Email address: 1phamhue2017@gmail.com

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/576>

Article info

Received: 03/6/2021

Accepted: 05/7/2021

Keywords:

piper lolot, extraction, essential oils, distillation, solvent concentration

Abstract:

Piper sarmentosum, scientifically known as Piper sarmentosum, is a common endemic species in Vietnam, Laos, and Cambodia, and contains many ingredients that are used to treat osteoarthritis pain. The guise leaf tree picked at the Faculty of Biotechnology and Food Science of Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry is dried and sliced. Experiment on extracting logos leaf oil using steam-enticing distillation method with the following contents: Finding a suitable solvent for guise leaf oil extraction is: NaCl for efficiency Extraction is 88%, appropriate solvent concentration is 2% with essential oil content will be obtained 0.790%, time is 3 hours. Found the ratio of solvent/material is 300/1 and obtained essential oil content of 0.820%.



NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH TINH DẦU CÂY LÁ LỐT ĐỂ CHỮA BỆNH ĐAU XƯƠNG KHỚP

Phạm Thu Huệ^{1,*}, Nguyễn Văn Bình¹, Phạm Thị Phương¹

¹Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên, Việt Nam

*Địa chỉ email: lphamhue2017@gmail.com

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/576>

Thông tin bài viết

Ngày nhận bài: 03/6/2021

Ngày duyệt đăng: 05/7/2021

Từ khóa:

Cây lá lốt, tách chiết, tinh dầu, chưng cất, nồng độ dung môi.

Tóm tắt

Cây lá lốt có tên khoa học là *Piper sarmentosum* là loài đặc hữu phổ biến ở các nước Việt Nam, Lào, Campuchia. Tinh dầu lá lốt chứa nhiều thành phần có công dụng chữa bệnh đau xương khớp. Cây lá lốt được hái ở khoa CNSH-CNTP trường ĐH Nông lâm Thái Nguyên được phơi khô và cắt lát cắt nhỏ. Thí nghiệm tách chiết tinh dầu lá lốt sử dụng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với các nội dung cho kết quả như sau: Tìm ra được dung môi thích hợp cho quá trình tách chiết tinh dầu lá lốt là: NaCl cho hiệu suất trích ly cao là 88%, nồng độ dung môi thích hợp là 2% với hàm lượng tinh dầu sẽ thu được là 0,790% , thời gian là 3 giờ. Tìm ra được tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 300/1 và thu được hàm lượng tinh dầu là 0,820%.

1. Đặt vấn đề

Trong hệ thực vật Việt Nam, nhóm các cây có tinh dầu rất phong phú và đa dạng. Đã thống kê được khoảng 657 loài thuộc 357 chi và 114 họ (chiếm khoảng 6,3% tổng số loài; 15,8% tổng số chi và 37,8% số họ). Họ Hồ tiêu (Piperaceae) có 4 chi, 50 loài (chi *Lepianthes* – Lân hoa có 01 loài: *Lepianthes umbellatum*; chi *Peperomia* – Càng cua có 06 loài; chi *Piper* – Hồ tiêu có 42 loài; chi *Zippelia* có 01 loài); thường là dây leo với lá đơn (mọc cách hay mọc đối, ít khi mọc vòng) phần lớn có gân vòng cung. Hoa tạo thành vòng nạc dày đặc (đôi khi có dạng như đuôi sóc); không có cánh hoa; bao phấn ngoại hướng và lá bắc rất nhỏ. Tập trung chủ yếu ở vùng nhiệt đới, đặc biệt là vùng Đông Nam Á và nhiệt đới châu Mỹ. Xu hướng hiện nay của các nhà khoa học trên thế giới đang tập trung

ngiên cứu không chỉ về mặt hình thái mà đặc biệt là các hợp chất hóa học có ở trong họ này để ứng dụng trong y dược học. Theo kinh nghiệm dân gian có nhiều loài trong họ Hồ tiêu (Piperaceae) được người dân sử dụng các bộ phận khác nhau để làm rau ăn và làm thuốc chữa trị bệnh, v.v, trong đó cây lá lốt (*Piper sarmentosum*) cũng là một trong cây trồng có nhiều tác dụng cho sức khỏe con người. Theo kết quả nghiên cứu lá và thân cây lá lốt chứa các chất ancaloit, flavonoid, và tinh dầu với thành phần chủ yếu là beta-caryophylen, rễ cũng có chứa tinh dầu nhưng thành phần chính là benzylaxetat. [3]

Lá lốt có vị nồng, hơi cay, có tính ấm, chống hàn (như bị lạnh bụng), giảm đau, chống phong hàn ở mức thấp, tay chân lạnh, nôn mửa, đầy hơi, khó

tiêu, đau đầu vì cảm lạnh. Nước sắc toàn cây trị đầy bụng, nôn mửa vì bị hàn, nước sắc rễ chữa tê thấp vì bị khí hàn, lá sắc đặc ngâm chữa đau răng. Lá tươi giã nát, phối hợp với lá khế, lá đậu ván trắng, mỗi thứ 50g thêm nước gạo uống giải độc, chữa say nắng. Lá lốt còn được dùng để nấu nước ngâm tay chân cho người bị bệnh tê thấp, hay đổ mồ hôi tay, mồ hôi chân. Thường được dùng để chữa các chứng đau nhức xương khớp khi trời lạnh .[2], [3],[4]

Trong hệ thống y học cổ truyền Trung Quốc, lá lốt được sử dụng để điều trị sốt và khó tiêu [5], rễ được sử dụng để giảm đau răng và điều trị dermatomycoses (bệnh da liễu), ho và viêm màng phổi [5], [6], [4], [7]. Ở Malaysia và các vùng phía nam của Thái Lan, lá được sử dụng bên ngoài để làm dịu cơn đau đầu. Hơn nữa, ở Negeri Sembilan, một tiểu bang của Malaysia, lá nghiền được sử dụng để điều trị sỏi thận [9]. Ở Indonesia, rễ được nhai để trị ho, hen suyễn và đau răng và lá được sử dụng để giảm đau ngực. Mặc dù đã có nhiều tài liệu và được người dân sử dụng như một vị thuốc nhưng lá lốt vẫn chỉ được biết đến như một loại rau để ăn bình thường hay dùng làm gia vị cho các món ăn chứ chưa thật sự được nghiên cứu nhiều về đặc tính dược liệu và các thông tin khoa học còn chưa đầy đủ. Vì vậy, nghiên cứu tách chiết tinh dầu lá lốt nhằm tìm ra công dụng là rất có ý nghĩa cho y học hiện đại và y học cổ truyền.

2. Đối tượng, phạm vi, nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu, địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Vật liệu nghiên cứu: Cây lá lốt
- Địa điểm nghiên cứu: Khoa CNSH – CNTP trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên
- Thời gian nghiên cứu: một năm

Cây lá lốt (*Piper sarmentosum*) được thu tại Khoa Công nghệ sinh học – Công nghiệp thực phẩm trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại dung môi chiết

Cân 250 gam nguyên liệu lá lốt đã được cắt nhỏ cho vào nồi chưng cất. Tiến hành chưng cất ở các dung môi khác nhau gồm Nước, NaCl 20%, C₂H₅OH 30%. Mỗi thí nghiệm được lập lại 3 lần.

Dịch chiết ra được đem đi phân tích để xác định hàm lượng tinh dầu. Dựa vào kết quả phân tích lựa chọn được dung môi thích hợp.

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ dung môi

Từ kết quả của thí nghiệm 2 tiến hành lựa chọn nồng độ dung môi khác nhau: Lấy 250 gam nguyên liệu đã cắt nhỏ 2cm cho vào nồi chưng cất.

+ Dung môi thích hợp là NaCl, tỷ lệ dung môi thích hợp là 20%

+ Nhiệt độ chiết 95°C và giữ ở lửa nhỏ

+ Thời gian chiết là 3 giờ

+ Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 300/1

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng thời gian chiết:

Thời gian chiết cũng là một yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Để đánh giá ảnh hưởng của thời gian tới hiệu suất thu hồi tinh dầu, thí nghiệm được tiến hành dựa trên các kết quả của thí nghiệm, nguyên liệu lá lốt được cắt nhỏ khoảng 2cm.

Các thông số được giữ cố định là:

+ Nồng độ dung môi là 20% là lựa chọn từ kết quả khảo sát của thí nghiệm 3

+ Nhiệt độ tách chiết: 95°C

+ Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu: 300/1

+ Thời gian chiết là 3h

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu:

Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu cũng là một yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Để đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu tới hiệu suất thu hồi tinh dầu, thí nghiệm lần lượt thay đổi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu sau đó thu dịch chiết và đem đi phân tích để xác định được tỷ lệ dung môi/nguyên liệu thích hợp để tách chiết được hàm lượng tinh dầu tối ưu nhất tiến hành dựa trên các kết quả của thí nghiệm trên.

Tỷ lệ dung môi nguyên liệu lần lượt là 200, 300, 400, 500

2.2.2. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu nghiên cứu

Phương pháp tính hàm lượng tinh dầu

Hàm lượng tinh dầu của mẫu thử, X, biểu thị bằng mililit trên 250g (ml/100g), được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{V \times 100}{w}$$

Trong đó:

X hàm lượng tinh dầu

V là thể tích tinh dầu thu được trong bình hứng, tính bằng mililit (ml);

w là khối lượng mẫu thử, tính bằng gam (g).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại dung môi chiết

Loại dung môi có ảnh hưởng lớn đến hàm

Bảng 1: Ảnh hưởng của loại dung môi chiết đến hàm lượng tinh dầu

Loại dung môi	Thời gian (h)	Nhiệt độ (°c)	Tỉ lệ (ml/g)	Hàm lượng tinh dầu (%)	Hiệu suất trích ly(%)
H2O	3	95	300/1	0,687 ^c	74,6
NaCl	3	95	300/1	0,812 ^a	88,2
C2H5OH	3	95	300 /1	0,751 ^b	81,5

Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha < 0,05$

^{a,b,c,...} trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong Duncan's test.

Ở thí nghiệm khi sử dụng với nước thì hàm lượng tinh dầu đạt hiệu suất trích ly là 74,6% tương đương với hàm lượng tinh dầu thu được là 0,687% còn ở thí nghiệm khác khi bổ sung thêm dung môi NaCl thì đạt hiệu suất trích ly là 88,2% tương đương với hàm lượng tinh dầu tăng lên 0,125%. Tiếp đến thí nghiệm có sử dụng dung môi C2H5OH thì có hiệu suất trích ly là 81,5% tương đương với thu được hàm lượng tinh dầu là 0,751%. Dựa vào kết quả này đã xác định được dung môi NaCl có hiệu suất trích ly cao nhất là 88,2%. Như vậy sau khi thực hiện 3 thí nghiệm chưng cất tinh dầu với 3 loại dung môi thì nhận thấy dung môi NaCl có hiệu suất trích ly cao và thu được nhiều tinh dầu nhất.

lượng tinh dầu thu được nhiều hay ít, trong quá trình trích ly và nhiệt độ tăng thì sẽ làm cho các dung môi thẩm thấu sâu vào trong nguyên liệu làm phá vỡ các tế bào ở trong nguyên liệu. Mỗi loại dung môi thì có các tính chất khác biệt nhau nên hiệu suất trích ly cũng như hàm lượng tinh dầu chiết tách ra cũng có sự chênh lệch và khác nhau. Để đánh giá ảnh hưởng của loại dung môi tách chiết thu tinh dầu lá lốt chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm và thu được kết quả được thể hiện dưới bảng 1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại dung môi đến hàm lượng và hiệu suất trích ly tinh dầu được trình bày ở bảng 1

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ dung môi chiết

Trong quá trình chưng cất, tinh dầu với nước tạo thành hệ nhũ tương, việc cho muối vào hỗn hợp chưng cất giúp tránh mất mát tinh dầu dưới dạng nhũ và đồng thời làm giảm độ tan của một số thành phần không phân cực có trong tinh dầu và nước. Muối cũng là chất điện ly làm tăng tỷ trọng, độ phân cực của nước giúp tinh dầu dễ phân lớp. Lượng tinh dầu thu được có thể giảm theo sự tăng nồng độ của muối do khi môi trường bên ngoài có nồng độ chất tan cao hơn nồng độ chất tan bên trong tế bào (chênh lệch áp suất thẩm thấu), nước từ tế bào sẽ đi ra ngoài, làm các lớp biểu bì ngoài chứa tinh dầu còn lại ngăn cản sự thoát tinh dầu ra ngoài

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối Nacl đến hàm lượng tinh dầu

Công thức	Nồng độ NaCl (%)	Hàm lượng tinh dầu (%)	Hiệu suất trích ly (%)
CT1	1	0,576 ^c	62,5

Công thức	Nồng độ NaCl (%)	Hàm lượng tinh dầu (%)	Hiệu suất trích ly (%)
CT2	2	0,790 ^a	85,8
CT3	3	0,602 ^b	65,4
CT4	4	0,533 ^d	57,9

Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha < 0,05$

^{a,b,c,...} trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong Duncan's test.

Từ kết quả của bảng trên cho thấy khi chiết ở nồng độ NaCl khác nhau thì sẽ cho hàm lượng tinh dầu được chiết ra sẽ khác nhau và hàm lượng tinh dầu tăng từ 0,576% đến 0,790% khi chiết ở nồng độ NaCl từ 1% đến 2% thì hiệu suất trích ly cũng tăng từ 62,5% lên 85,8%. Hàm lượng tinh dầu đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 2% tương ứng với hàm lượng tinh dầu là 0,790% và có hiệu suất trích ly là 85,8% cao hơn khoảng 1,366% so với hàm lượng tinh dầu chiết tại nồng độ muối NaCl 1%, cao hơn 0,188% so với hàm lượng tinh dầu chiết tại nồng độ muối NaCl 3% và cao hơn 0,257% so với nồng độ muối NaCl 4%. Việc thêm NaCl vào quá trình chưng cất làm tăng hiệu suất chiết, nhưng nếu ta tăng nồng độ muối NaCl lên trên 2% thì hàm lượng tinh dầu lại có xu hướng giảm

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiết đến hàm lượng tinh dầu

Thời gian trích ly phụ thuộc vào các yếu tố: Nguyên liệu, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ. Thời gian trích ly càng dài thì càng thu được nhiều tinh dầu nên đây là 1 trong những yếu tố quyết định đến hàm lượng tinh dầu thu được. Tuy nhiên nếu chưng cất trong thời gian quá ngắn thì lượng tinh dầu trích ly chưa hết hoàn toàn hay nó vẫn còn tồn tại trong tế bào tiết, khi kéo dài thời gian trích ly đến một giới hạn nhất định thì lượng tinh dầu thu hồi không tăng nữa, đồng thời có thể ảnh hưởng đến chất lượng tinh dầu do một số chất trong tinh dầu có thể bị biến tính do tiếp xúc quá lâu với nhiệt độ

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chưng cất

Công thức	Thời gian (h)	Hàm lượng tinh dầu (%)	Hiệu suất trích ly (%)
CT1	2	0,598 ^c	65,0
CT2	3	0,816 ^b	88,6
CT3	4	0,819 ^a	88,9
CT4	5	0,820 ^a	89,0

Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha < 0,05$

^{a,b,c,...} trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong Duncan's test.

Từ kết quả bảng 3 cho thấy thời gian chưng cất là yếu tố ảnh hưởng tới hàm lượng tinh dầu thu được sau quá trình chiết. Khi chiết ở 2 giờ cho hàm lượng tinh dầu là 0,598% và đạt hiệu suất trích ly là 65,0%, Khi tăng thời gian chiết lên đến 3 giờ, hàm lượng tinh dầu tăng đến 0,816% với hiệu suất trích ly là

88,6% tăng lên 0,218% so với khi chiết ở 2 giờ. Tiếp tục tăng thời gian chiết lên đến 4 giờ thì hàm lượng tinh dầu tăng nhưng tăng nhẹ lên 0,819% đạt hiệu suất trích ly là 88,9%, tức là chỉ tăng lên 0,003% hàm lượng tinh dầu này tăng không đáng kể so với chiết ở thời gian 3 giờ. Ở thời gian 5 giờ thì hàm

lượng tinh dầu cũng có xu hướng tăng nhẹ lên 0,820% với hiệu suất trích ly là 89,0% tức là tăng lên 0.004% so với hàm lượng tinh dầu thu được ở thời gian là 3 giờ. Do đó, chiết bằng công thức 2 (chiết trong 3 giờ) cho hàm lượng tinh dầu cao nhất là 0,816% thích hợp hơn so với công thức còn lại. Đối với công thức 3 và 4 thì hàm lượng tinh dầu vẫn có xu hướng tăng nhưng không đáng kể vì mất nhiều thời gian để chiết tách mà hàm lượng tinh dầu tăng thêm rất ít chỉ khoảng 0,003% và 0,004% so với ở thời gian 3 giờ. Vì vậy theo chúng tôi để thu được hàm lượng tinh dầu cao và tốt nhất mà tốn ít thời gian chưng cất thì chúng ta nên chọn thời gian chiết là 3 giờ.

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu

Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu có ảnh hưởng tới hàm lượng tinh dầu thu được. Trong quá trình trích ly bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước, khi gia nhiệt hỗn hợp nguyên liệu và nước, hơi nước thẩm thấu vào trong các lớp tế bào, làm phá vỡ túi tinh dầu và lôi cuốn tinh dầu theo hơi nước. Nếu lượng nước quá ít thì không đủ hòa tan các chất keo, muối bao bọc xung quanh túi tinh dầu, làm tinh dầu không thoát ra được. Sử dụng càng nhiều dung môi để trích ly thì khả năng khuếch tán của tinh dầu vào dung môi càng lớn [1]. Dung môi dễ dàng thẩm thấu vào nguyên liệu và hòa tan các cấu tử cần trích ly nên lượng tinh dầu trong dung môi càng cao[7]. Tuy nhiên, ở một giới hạn nhất định lượng tinh dầu thu hồi sẽ tăng lên không đáng kể dù tăng lượng dung môi hoặc có thể giảm do lượng nước nhiều gây tổn thất tinh dầu do chưng cất quá lâu

Bảng 4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu

Công thức	Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu (ml/g)	Hàm lượng tinh dầu (%)	Hiệu suất trích ly (%)
CT1	200/1	0,602 ^d	65,4
CT2	300/1	0,820 ^c	89,0
CT3	400/1	0,833 ^b	90,4
CT4	500/1	0,839 ^a	91,1

Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha < 0,05$

^{a,b,c,...} trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong Duncan's test.

Từ bảng 4. của thí nghiệm cho thấy: tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu có ảnh hưởng tới hàm lượng tinh dầu. Khi tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu từ 200/1 đến 300/1 cho thấy hàm lượng tinh dầu lá lốt được chiết tách tăng từ 0,60 - 0,820%, còn tỷ lệ dung môi/nguyên liệu từ 300/1 đến 400/1 thì hàm lượng tinh dầu lá lốt có xu hướng tăng nhẹ không đáng kể khoảng từ 0,820% lên 0,833%, tăng khoảng 0,013%. Khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu lên 500/1 thì hàm lượng tinh dầu cũng tăng nhẹ lên 0,839% tăng khoảng 0.006% so với tỷ lệ CT3 và tăng khoảng 0,019% so với CT2. Như vậy từ kết quả trên theo nên chọn tỷ lệ ở CT2 là thích hợp nhất bởi với tỷ lệ không quá cao mà đem hàm lượng

tinh dầu cao với CT3 và CT4 hàm lượng tinh dầu vẫn tăng nhưng với lượng không đáng kể mà phải sử dụng lượng dung môi gấp đôi. Vì vậy nên chọn tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu thích hợp là 300/1 để tiết kiệm dung môi và không làm tổn thất tinh dầu.

4. Kết luận và đề nghị

4.1. Kết luận

Sau thời gian nghiên cứu, chúng tôi đã xác định được những nồng độ nghiên cứu khác nhau của quá trình tách chiết tinh dầu là: Tìm ra được dung môi thích hợp cho quá trình tách chiết tinh dầu lá lốt là: NaCl cho hiệu suất trích ly cao là 88%, nồng độ dung môi thích hợp là 2% với hàm lượng tinh dầu

sẽ thu được là 0,790% , thời gian là 3 giờ. Tìm ra được tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 300/1 và thu được hàm lượng tinh dầu là 0,820%.

4.2. Đề nghị

Trong thời gian làm đề tài khoa học cấp trường này, những kết quả thu được chỉ là những kết quả của bước đầu. Nếu có thời gian, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về ảnh hưởng của các điều kiện chiết và dung môi chiết ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu lá lốt thu được và ứng dụng của nó trong điều trị bệnh đau xương khớp. Chẳng hạn như:

- Nghiên cứu ảnh hưởng của một số dung môi hoặc hỗn hợp một số dung môi khác đến hàm lượng tinh dầu thu được.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện chiết khác nhau như: chiết lò vi sóng, chiết ngâm kiệt, chiết lạnh,...

REFERENCES

- [1] Dien, V. V., Vui, D. T., Tinh, H. (2004). Contributing to research on the chemistry and biological effects of Herba Piperis Lolot. *Pharmacology, No. 10 (8-10) in the pepper family (PIPERACEAE) in North Central*. Hanoi Academy of Science and Technology, Vietnam.
- [2] Hieu, L. D. (2017). *Research on some biological characteristics, distribution and chemical composition of essential oils of species in the pepper family (Piperaceae) in North Central Vietnam*, Vietnam.
- [3] Thuy, T. X. *Contributing to research on chemical composition of guise leaves (Piper lolot C.DC)*. Master Thesis, Vietnam.
- [4] Tinh, T. D. X. (2014). *Research on extraction and determination of chemical composition in guise leaf extract in Hoa Vang district*. University of Da Nang, University of Pedagogy, Faculty of Chemistry, Vietnam.
- [5] Chaveerach, A., Mokkamul, P., Sudmoon, R., Tanee, T. (2008). *Ethnobotany of the genus Piper (Piperaceae) in Thailand*. *Ethnobot Res Appl*, 4: 223–231.
- [6] Perry, L. M. (1981). *Medicinal plants of East and Southeast Asia*. Cambridge: MIT Press.
- [7] Duke, J. A., Ayensu, E. S. (1985). *Medicinal Plants of China*. Algonac, USA: Reference Publications Inc.
- [8] Toong, V. Y., Wong, B. L. (1989). *Phytochemistry of medicinal plants Piper sarmentosum*. Kuala Lumpur: Traditional Medicine, Institute of Advance Studies, University of Malaya.
- [9] Ong, H., Norzalina, J. (1999). Malay herbal medicine in Gemencheh, Negri Sembilan, Malaysia. *Fitoterapia*, 70, 10–14. [Crossref], [Web of Science ®],