

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ GEL RỬA MẶT TỪ CAO LÁ TRÀU KHÔNG
(*Piper betel* L.) CÓ TÁC DỤNG KHÁNG KHUẨN

Nguyễn Thị Mỹ Huyền*, Ngô Thùy Tú Ngọc, Lu Xuân Như, Nguyễn Thị Nguyệt Anh,
Trần Ngọc Giang, Hồ Thị Thanh Nhân, Lê Thị Minh Ngọc

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: ntmhuyen.d41@student.ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Ngày nay, xu hướng sử dụng các sản phẩm tự nhiên từ các loại thảo dược ngày càng phổ biến. Lá Trầu không có tác dụng diệt khuẩn, chống viêm, trị mụn rất tốt và an toàn, nhưng chưa được nghiên cứu và ứng dụng nhiều. **Mục tiêu:** Khảo sát quy trình chiết xuất tối ưu cao lá Trầu không và công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá Trầu không có tác dụng kháng khuẩn. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đề tài khảo sát trên đối tượng là lá Trầu không. Bằng phần mềm BC-Pharsoft, đã mô tả mối liên quan nhân quả giữa các yếu tố có ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất cao lá Trầu không từ đó đưa ra quy trình chiết xuất tối ưu. Thiết kế mô hình thực nghiệm và bào chế 10 công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá Trầu không gồm: carbopol 940, propylen glycol, NaOH 10%, natri benzoat, menthol trong cồn và chất tạo bọt. Tính kháng khuẩn của gel từ cao lá Trầu không được khảo sát trên in vitro bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. **Kết quả:** quy trình chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu với dung môi nước ở nhiệt độ 70°C, tỉ lệ dung môi/dược liệu là 4,034:1, thời gian chiết là 129 phút và lượng dịch cô còn lại trước khi lắc phân bố với DCM là 91,4mL sẽ đạt được mức độ kháng *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*, hàm lượng polyphenol trong cao là cao nhất. Kết quả thực nghiệm cho thấy công thức 9 đạt được độ nhớt, độ pH và khả năng tạo bọt thích hợp cho sản phẩm dạng gel dùng rửa mặt và có tác dụng kháng khuẩn. **Kết luận:** Đã tối ưu hoá được quy trình chiết xuất cao lá Trầu không và công thức bào chế gel trị mụn chứa cao lá Trầu không có khả năng kháng khuẩn.

Từ khóa: gel, cao Lá trầu không, BC-Pharsoft.

ABSTRACT

RESEARCHING ON FACE WASH GEL PREPARATION WITH BETEL LEAF
EXTRACT (*Piper betel* L.) HAVING ANTIBACTERIAL ABILITY

Nguyen Thi My Huyen, Ngo Thuy Tu Ngoc, Lu Xuan Nhu, Nguyen Thi Nguyet Anh,
Tran Ngoc Giang, Ho Thi Thanh Nhan, Le Thi Minh Ngoc

Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Nowadays, the trend of using natural products from herbs is increasing. Betel leaf has antibacterial, anti-inflammatory and anti-acne effects well and safely, but it has not been studied and applied widely. **Objectives:** to investigate the optimal extraction process of Betel leaf extract and to formulate face wash gel preparation with Betel leaf extract having antibacterial ability. **Materials and methods:** By BC-Pharsoft software, described the causal relationship of the factors that influenced the process of extracting Betel leaves, then published the optimal extraction process. Designed the experimental model and prepared 22 formulations for making face wash gels with Betel leaf extract including: carbopol 940, propylene glycol, 10% NaOH, sodium benzoate, menthol in ethanol and foaming agent. Antibacterial properties of gels with Betel leaf extract were investigated *in vitro* by diffusion method on agar. **Results:** Extraction process by refluxing method with water solvent that was conducted at a temperature of 70°C, solvent/medicinal ratio was 4,034/1, extraction time was 2,147 hours and the amount of liquid remaining before shaking distribution with diclorometan was 91mL, achieved the highest level of resistance to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and the highest polyphenol content. In addition, results from experiments showed that F9 formulation had viscosity, pH and washability that were suitable for face wash gel and antibacterial effect. **Conclusion:** Optimized the extraction process of Betel leaf extract and the formulation of anti-acne gel with Betel leaf extract having antibacterial ability.

Keywords: gel, Betel leaf extract, BC-Pharsoft.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Trầu không (TK) có tên khoa học là *Piper betle* L., thuộc họ Hồ tiêu (Piperaceae), là một loài cây quen thuộc đối với người Việt Nam. Theo y học cổ truyền, lá TK có vị cay nồng, mùi thơm hắc, tính ấm. Chúng có tác dụng trừ phong, tiêu viêm, sát trùng, kháng khuẩn. Trong dân gian, rất nhiều người đã sử dụng lá TK để trị hiệu quả các bệnh ngoài da, bệnh phụ nữ (3).

Ngày nay, TK đã được quan tâm và nghiên cứu nhiều hơn về thành phần hóa học cũng như tác dụng điều trị trên *in vitro*. Theo y học hiện đại, trong lá TK có chứa nhiều tinh dầu có mùi thơm, hắc, là hợp chất polyphenol có tên là chavicol đã được chứng minh có tác động kháng khuẩn, kháng nấm da (1). Chính vì thế, lá TK có tác dụng diệt khuẩn, chống viêm, trị mụn rất tốt và an toàn. Đặc biệt, loại lá này có chứa nhiều nước, muối khoáng, protein, chất xơ, carbohydrate cùng nhiều loại khoáng chất khác như kẽm, calci nên có tác dụng đẩy lùi melamin trị nám và tàn nhang hiệu quả. Mặt khác, xu hướng sử dụng các sản phẩm tự nhiên từ các loại thảo dược ngày càng phổ biến. Do đó, đề tài được thực hiện nhằm mục đích khai thác lá TK, góp phần ứng dụng những lợi ích từ cao lá TK vào sản phẩm gel rửa mặt. Đề tài có ba mục tiêu nghiên cứu sau đây:

- Khảo sát điều kiện chiết xuất của cao lá TK *Piper betle* L.
- Nghiên cứu công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá TK *Piper betle* L.
- Thử tác dụng kháng khuẩn của gel rửa mặt chứa cao lá TK *Piper betle* L.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng

Lá TK tươi thu hái ở An Giang.

Các chủng vi khuẩn: *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 và các vi khuẩn phân lập được mẫu bệnh phẩm mụn.

Hóa chất: Nước cất, diclorometan, dimethyl sulfoxid, methanol, natri carbonat, thuốc thử Folin-Ciocalteu, carbopol 940, natri benzoat, menthol, cocamidopropyl betain, propylen glycol.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát điều kiện chiết xuất cao lá TK với sự hỗ trợ của phần mềm BC-Pharsoft

Quy trình chiết xuất:

Lá Trầu tươi được cắt nhỏ được chiết bằng phương pháp đun hồi lưu. Dịch chiết thu được đem cô bót dung môi đến thể tích khảo sát. Dịch chiết sau khi cô được lắc phân bố với diclorometan và phân đoạn diclorometan được cô thu hồi dung môi để được cao lá TK.

Mức độ kháng vi khuẩn được tính theo công thức: $S = \frac{m}{MIC}$

Trong đó:

- S là mức độ kháng vi khuẩn
- m là khối lượng cao chiết được
- MIC là nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn (μg)

Các điều kiện cố định:

- Nguyên liệu: lá TK tươi 200g/lô.
- Dung môi: nước cất.
- Phương pháp chiết: đun hồi lưu.

Các biến độc lập bao gồm:

- X₁: tỉ lệ dung môi/dược liệu (3-4-5)
- X₂: thời gian chiết (1-2-3 giờ)
- X₃: lượng dịch chiết sau khi cô trước khi lắc phân bố với diclorometan (20-60-100mL)

Các biến phụ thuộc:

- Y₁: mức độ kháng *S.aureus*

- Y_2 : mức độ kháng *E.coli*
- Y_3 : hàm lượng phenolic toàn phần có trong cao chiết (g)

Điều kiện ràng buộc cho các biến phụ thuộc: dùng hàm Up (càng cao càng tốt)

Mô hình thực nghiệm: Dựa vào mô hình D-Optimal, mô hình thực nghiệm được xây dựng gồm 19 thí nghiệm. Thực hiện chiết theo qui trình đun hồi lưu với dung môi nước. Các biến số phụ thuộc được xác định đối với từng thí nghiệm.

Kiểm chứng lại kết quả bằng thực nghiệm

Lá TK tươi được chiết lại 3 lần với cùng điều kiện đã xác định theo mô hình. Kết quả thực nghiệm được so sánh với các giá trị dự đoán.

Các mẫu cao lá TK được xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trên các chủng *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 bằng phương pháp vi pha loãng theo hướng dẫn của CLSI.⁽²⁾

Định lượng polyphenol toàn phần trong cao lá TK bằng phương pháp Folin-Ciocalteu.^{(4),(5)}

2.2.2. Nghiên cứu công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá TK có tác dụng kháng khuẩn.

- Thành phần chính của gel rửa mặt bao gồm: cao lá TK (3%), menthol 0,2%, carbopol 940 (x%), propylen glycol (y%), chất tạo bọt cocamidopropyl betain (z%), NaOH 10% (vỡ pH=7), chất bảo quản natri benzoat 0,1%.

- Tiến hành khảo sát lần lượt x, y và z là: nồng độ carbopol 940 (0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%), nồng độ propylen glycol (10%, 12%, 15%), và nồng độ chất tạo bọt (2%, 3%, 4%). (Bảng 2.1)

Bảng 1. Khảo sát công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá TK

	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6	CT7	CT8	CT9	CT10
Carbopol	0,4	0,6	0,8	1	x_{TU}	x_{TU}	x_{TU}	x_{TU}	x_{TU}	x_{TU}
Propylen glycol	10	10	10	10	10	12	15	y_{TU}	y_{TU}	y_{TU}
Chất tạo bọt	3	3	3	3	3	3	3	2	3	4

(với x_{TU} là nồng độ carbopol 940 phù hợp, y_{TU} là nồng độ propylen glycol phù hợp)

- Tiến hành bào chế gel rửa mặt theo quy trình sau:

- + Nghiền mịn carbopol.
- + Phân tán từ từ carbopol vào khoảng 20mL nước. Cho propylen glycol vào trộn đều. (1)
- + Thêm dung dịch NaOH 10% vào (1), điều chỉnh đến pH = 7. (2)
- + Hòa tan menthol vào lượng cồn ethylic vừa đủ.
- + Hòa tan natri benzoat, cao lá TK, dung dịch menthol vào (2).
- + Thêm chất tạo bọt vào khuấy nhẹ nhàng. Bổ sung nước vừa đủ khối lượng.

- Đánh giá tính chất gel thu được trên các thông số: cảm quan (thể chất mềm mượt, không quá đặc cũng không quá lỏng, không gây rít tay, mùi thơm dễ chịu, màu vàng nhạt hoặc không màu), độ nhớt (6500-7000cps), khả năng tạo bọt tốt, pH của dung dịch gel 1% ~ 7. Các tính chất này được khảo sát ở thời điểm sau khi bảo quản 7 ngày trong các thời điều kiện: 10 °C, 25 °C, 40 °C⁽⁶⁾.

2.2.3. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của gel rửa mặt chứa cao lá TK

Gel rửa mặt chứa cao lá TK được xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trên các chủng *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 và các chủng vi khuẩn phân lập được từ 20 mẫu bệnh phẩm của bệnh nhân bị mụn trứng cá đến điều trị tại bệnh viện Da liễu Cần Thơ bằng phương pháp khuếch tán trên thạch theo hướng dẫn của CLSI.⁽²⁾

Chứng dương: vancomycin đối với vi khuẩn gram dương và colistin đối với vi khuẩn gram âm; *chứng âm*: DMSO; *mẫu placebo*: thành phần giống mẫu thử nhưng không có cao lá TK.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát điều kiện chiết xuất cao lá TK với sự hỗ trợ của phần mềm BC-Pharsoft

Kết quả bố trí thí nghiệm khảo sát sự ảnh hưởng của các yếu tố tỉ lệ dung môi/dược liệu (X_1), thời gian chiết (X_2) và lượng dịch chiết sau khi cô trước khi lắc phân bố với diclorometan (X_3) đến quá trình chiết xuất cao lá TK được trình bày trong Bảng 3.1.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm

CT	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3	CT	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3
1	3	1	20	40625	10156	1,969	11	5	3	60	76563	19141	3,449
2	4	3	20	73750	18438	3,210	12	4	1	60	43750	10938	2,238
3	4	2	60	62188	15547	2,838	13	5	2	100	62500	15625	3,293
4	4	1	100	54063	13516	2,771	14	3	2	100	46875	11719	2,055
5	3	3	20	53438	13359	2,220	15	5	1	100	53438	13359	2,577
6	5	2	20	56250	14063	2,883	16	5	1	20	52188	13047	2,540
7	5	3	100	77188	19297	3,561	17	4	3	100	69688	17422	3,377
8	5	2	60	67188	16797	2,972	18	3	2	60	48438	12109	1,857
9	4	2	20	60313	15078	2,836	19	3	3	60	50938	12734	2,216
10	3	1	60	36875	92190	1,955							

Dữ liệu trong bảng được dùng làm yếu tố đầu vào cho phần mềm BC-Pharsoft.

Quy trình tối ưu từ phần mềm BC-Pharsoft

Cao lá TK được chiết xuất tối ưu khi tỉ lệ dung môi/dược liệu (X_1) là 4,034:1 thời gian chiết (X_2) là 2,147 giờ (tương đương 129 phút) và lượng dịch cô còn lại trước khi lắc DCM (X_3) là 91,4 mL.

Khi so sánh kết quả tối ưu từ phần mềm với các giá trị thực nghiệm từ Bảng 3.2 cho thấy không có sự khác biệt ($F=2,26 < F_{crit}=18,51$).

Bảng 3. Kiểm chứng lại kết quả bằng thực nghiệm

	Y_1	Y_2	Y_3
Lần 1	70813	17203	3,3287
Lần 2	70313	17578	3,3745
Lần 3	70938	17734	3,3070
TB	72250	18063	3,3820
Dự đoán	70161,177	17378,379	3,261

Do đó, quy trình tối ưu được chọn làm quy trình chiết cao lá TK.

3.2. Nghiên cứu công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá TK có tác dụng kháng khuẩn

3.2.1. Khảo sát nồng độ carbopol

Bảng 4. Bảng đánh giá các công thức gel

	Độ nhớt (cps)			Khả năng tạo bọt			pH		
	4 °C	25 °C	40 °C	4 °C	25 °C	40 °C	4 °C	25 °C	40 °C
CT1	2231	2217	2209	+	+	+	6,86	6,85	6,85
CT2	6840	6812	6821	+	+	+	6,92	6,92	6,91
CT3	7813	7834	5824	+	+	+	7,12	7,13	7,12
CT4	11313	11234	7224	+	+	+	7,11	7,10	7,12

Kết quả cho thấy về cảm quan, CT1 thể chất lỏng, CT2 thể chất lỏng hơi sánh, CT3 thể chất lỏng sánh, CT4 thể chất đặc, khó chảy. Tất cả đều có màu vàng nhạt, mùi đặc trưng của menthol và TK. Tính chất gel ở CT1 và CT2 không thay đổi đáng kể ở các điều kiện bảo quản. Khi tăng nồng độ carbopol lên từ 0,8%, gel không ổn định, bị chảy lỏng khi bảo quản ở nhiệt độ 40 °C (CT3, CT4).

Do đó, chọn nồng độ carbopol là 0,6% cho các thử nghiệm kế tiếp.

3.2.2. Khảo sát nồng độ propylen glycol

Về độ nhớt, khả năng tạo bọt và pH, cả 3 công thức đều đạt yêu cầu ở các điều kiện bảo quản.

Về cảm quan: gel có thể chất lỏng hơi sánh, màu vàng nhạt, mùi đặc trưng của menthol và TK. Tuy nhiên, ở CT5 gel ít mượt, độ sánh ít và CT7 lại gây cảm giác hơi rít tay. Do đó, chọn CT5 cho các thử nghiệm kế tiếp.

3.2.2. Khảo sát nồng độ chất tạo bọt

Về cảm quan, độ nhớt và pH, cả 3 công thức đều đạt yêu cầu ở các điều kiện bảo quản.

Về khả năng tạo bọt: ở CT8 gel hầu như không tạo bọt. CT 9 và CT10 khả năng tạo bọt tốt. Nhằm hạn chế gây khô da, đề tài chọn tỷ lệ chất tạo bọt là 3%.

3.3. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của gel rửa mặt chứa cao lá TK

Từ các mẫu bệnh phẩm của 20 bệnh nhân bị mụn trứng cá đến điều trị tại bệnh viện Da liễu Cần Thơ, tiến hành phân lập và định tính khả năng kháng khuẩn của gel rửa mặt chứa cao lá TK.

Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn của gel bằng phương pháp khuếch tán được trình bày trong Bảng 3.4 và 3.5.

Bảng 5. Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn trên các chủng vi khuẩn chuẩn

Vi khuẩn phân lập được	Đường kính vòng vô khuẩn (mm) (bao gồm cả đường kính lỗ đục là 6mm)			
	Chứng âm	Chứng dương	Placebo	Gel
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	6	17	11	42
<i>E.coli</i> ATCC 25922	6	12	8	18

Qua kết quả thử định tính bằng phương pháp kháng sinh đồ Kirby-Bauer cho thấy, với vancomycin, dùng dạng đĩa giấy nồng độ chuẩn 30 μ g, cho đường kính vòng vô khuẩn 17mm chứng tỏ vancomycin nhạy với nhóm vi khuẩn gram dương (*Staphylococcus spp*) theo CLSI. Với colistin, cũng dùng dạng đĩa giấy nồng độ chuẩn 10 μ g cho đường kính vòng vô khuẩn 12mm chứng tỏ colistin nhạy với nhóm vi khuẩn gram âm (*Enterobacteriaceae*) theo CLSI. Đối với chứng âm, DMSO không gây ức chế vi khuẩn, do đó có thể loại trừ yếu tố ảnh hưởng từ dung môi. Với mẫu placebo cho thấy các thành phần khác trong gel rửa mặt cũng có vòng kháng khuẩn nhưng nhỏ chứng tỏ các thành phần này cũng tham gia hỗ trợ khả năng kháng khuẩn cho chế phẩm.

Bảng 6. Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn phân lập từ mẫu mụn

Mẫu	Vi khuẩn phân lập được	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			Mẫu	Vi khuẩn phân lập được	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Chứng âm	Placebo	Gel			Chứng âm	Placebo	Gel
1	Gram (-)	6	6	8	11	Gram (+)	6	9	40
2	Gram (+)	6	11	32	12	Chết	-	-	-
3	Gram (+)	6	10	39	13	Gram (-)	6	6	8
4	Gram (+)	6	12	50	14	Chết	-	-	-
5	Gram (+)	6	9	28	15	Gram (+)	6	10	30
6	Gram (-)	6	6	11	16	Gram (+)	6	9	31
7	Gram (-)	6	8	14	17	Chết	-	-	-
8	Gram (+)	6	11	36	18	Chết	-	-	-
9	Chết	-	-	-	19	Gram (+)	6	9	39
10	Gram (+)	6	10	34	20	Gram (+)	6	11	25

(-) không thực hiện do vi khuẩn bị chết trong quá trình bảo quản.

Đường kính vòng vô khuẩn bao gồm cả đường kính lỗ đục là 6mm

Ở vi khuẩn gram dương, hầu như tất cả các mẫu gel đều cho kết quả kháng khuẩn tốt (đường kính vòng vô khuẩn lớn, rõ, tròn đều). Ở vi khuẩn gram âm, các mẫu có hoạt tính kháng khuẩn, nhưng hoạt tính lại khá yếu (đường kính vòng vô khuẩn nhỏ, khó xác định). Như vậy, gel rửa mặt chứa cao lá

TK, về mặt *in vitro*, có thể cơ bản xác định rằng gel có hoạt tính kháng khuẩn trên cả 2 dòng vi khuẩn gram âm và gram dương, trong đó cho tác dụng mạnh trên vi khuẩn gram dương hơn.

So sánh trên 2 dòng vi khuẩn chuẩn và dòng phân lập từ bệnh phẩm cho thấy, đường kính vòng kháng khuẩn của gel rửa mặt chứa cao lá TK trên dòng vi khuẩn phân lập từ bệnh phẩm mụn đa số đều nhỏ hơn so với dòng vi khuẩn chuẩn. Điều này lý giải là vì vi khuẩn trong mẫu bệnh phẩm mụn đã trở nên kém nhạy cảm hơn do các điều kiện môi trường thay đổi, thói quen sinh hoạt hay do việc tự tiện sử dụng các loại thuốc để điều trị... Việc đánh giá hoạt tính kháng khuẩn này được xem như là tiền đề cho các nghiên cứu thực nghiệm tiếp theo.

IV. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được quy trình chiết xuất cao lá TK bằng phần mềm BC-Pharsoft như sau: sử dụng phương pháp đun hồi lưu với dung môi nước, tỉ lệ dung môi/dược liệu là 4,034:1, thời gian chiết là 129 phút và lượng dịch cô còn lại trước khi lắc phân bố với DCM là 91,4 mL. Với điều kiện này sẽ thu được mức độ kháng *S.aureus* và *E.coli* khá tốt lần lượt là 70161,177 và 17378,379; hàm lượng polyphenol trong cao là 3,261g.

Đã nghiên cứu được công thức bào chế gel rửa mặt chứa cao lá TK với nồng độ carbobol 940 là 0,6%, propylen glycol là 12% và chất tạo bọt là 3%. Gel bào chế được thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt trên các chủng vi khuẩn chuẩn *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 và các chủng vi khuẩn phân lập được từ 20 mẫu mụn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buddhie Samanmalie Nanayakkara, Charmalie Lilanthi Abayasekara, Gehan J. Panagoda, H. M. Dinusha Kumari Kanatiwela and M. R. Dammantha M. Senanayake (2014), "Anti-candidal activity of *Piper betle* (L.), *Vitex negundo* (L.) and *Jasminum grandiflorum* (L.)", *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 8(23), pp. 2307-2314.
2. Clinical and laboratory standard institute (2018), *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, USA, pp.30-64.
3. Đỗ Tất Lợi (2015), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB thời đại, tr.118-119.
4. International Standard ISO (2005), "Determination of substances characteristic of green and black tea Part 1", *ISO 14502-1*, Switzerland, pp.1-6.
5. [Kazi Nahid Akter](#), [Palash Karmakar](#), [Abhijit Das](#), Shamima Nasrin Anonna, [Sharmin Akter Shoma](#) and [Mohammad Mafruhi Sattar](#) (2014), "Evaluation of antibacterial and anthelmintic activities with total phenolic contents of *Piper betel* leaves", *Avicenna Journal of Phytomedicine*, vol 4(5), pp.320-329.
6. Tazyinul Qoriah A., et al (2018), "Wound-healing test of *Piper betel* leaf extract and *Aloe vera* in gel preparation", *International Journal of Applied Pharmaceutics*, vol 10 (3), pp 86-91.

(Ngày nhận bài: 21/9/2019- Ngày duyệt đăng: 06/11/2019)
