

KHẢO SÁT SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC, ĐẶC ĐIỂM VI PHẪU VÀ HÌNH THÁI CỦA CÂY LÁ ĐẮNG

THE INITIAL RESEARCH ON PHYTOCHEMICAL COMPOSITIONS, MICROSURGERY AND FEATURES OF BITTER LEAF

Lê Thị Mi Chi¹, Kiều Loan², Lê Thị Đại Phương¹

¹Sinh viên Trường Đại học Duy Tân; letmichi@gmail.com; lethidaiphuong94@gmail.com

²Trường Đại học Duy Tân; kieuloan242@gmail.com

Tóm tắt - Cây Lá đắng (*Vernonia amygdalina* Delile, họ Asteraceae) có nguồn gốc từ Châu Phi, mới được di thực vào Việt Nam. Hiện nay loài cây này được nhân dân trồng và sử dụng rất phổ biến. Tuy nhiên, trong quá trình sử dụng có sự nhầm lẫn giữa cây Lá đắng và những loài cây khác. Nhưng ở nước ta vẫn chưa có một nghiên cứu nào cụ thể về loài cây này; vì vậy, nghiên cứu về cây Lá đắng đang được trồng ở Việt Nam là một điều hết sức cần thiết để phân biệt, tránh nhầm lẫn và sử dụng dược liệu hiệu quả hơn. Bài viết này trình bày một số kết quả bước đầu phân tích sơ bộ thành phần hóa học, các đặc điểm hình thái, vi phẫu, và bột dược liệu của cây Lá đắng đang được trồng tại Đà Nẵng, Việt Nam.

Từ khóa - Lá đắng; *Vernonia amygdalina* Delile; thành phần hóa học; đặc điểm vi phẫu; hình thái.

Abstract - The Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Delile, Asteraceae) originates in Africa and has been taken to Vietnam recently. Nowadays the plant is grown and used nationwide. However, there are some confusions between this kind of plant and other herbals. In Vietnam there has not been any detailed research on this species; therefore, studying the Bitter Leaf, which is planted in Vietnam, is really necessary to differentiate it from other herbs, avoiding confusion and using it more effectively. This article presents some initial studies of phytochemical composition, features, microsurgery and botanical powder of *Vernonia amygdalina* being grown in Danang, Vietnam.

Key words - Bitter leaf; *Vernonia amygdalina* Delile; phytochemical composition; microsurgery; features.

1. Đặt vấn đề

Cây Lá đắng có tên khoa học là *Vernonia amygdalina* Delile, thuộc họ Cúc (Asteraceae) [1]. Cây này vốn có nguồn gốc từ Châu Phi, mới được di thực vào nước ta. Cây rất dễ trồng, chủ yếu bằng cách giâm cành. Bộ phận dùng chính của cây là lá và thân.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh tác dụng chữa bệnh của cây Lá đắng như: trị đái tháo đường, chống oxy hóa và điều hòa miễn dịch, trị xơ vữa động mạch, chống béo phì, kháng viêm, chống ung thư, trị sốt rét, chống dị ứng... [2-4], [5-12]. Thời gian gần đây, loài cây này được sử dụng rất phổ biến ở nước ta, được người dân truyền miệng qua nhau với tên gọi là “Thần dược mới”.

Tuy nhiên, thông tin lan truyền trên các phương tiện truyền thông và trong đời sống nhân dân còn có sự nhầm lẫn giữa *Vernonia amygdalina* Delile với một số loài cây khác. Vì vậy việc nghiên cứu về cây thuốc này là một việc hết sức cần thiết để phân biệt, nhằm mục đích tránh nhầm lẫn góp phần sử dụng cây thuốc hợp lý, khoa học, tránh những biến cố bất lợi, rủi ro.

Đề tài được tiến hành nhằm các mục tiêu sau

1. Khảo sát hình thái thực vật bên ngoài và đặc điểm vi phẫu để có thêm dẫn liệu giúp cho việc nhận biết và tránh nhầm lẫn khi cần thiết.

2. Sơ bộ nắm được về thành phần các nhóm hợp chất hóa học chủ yếu của cây trồng tại Việt Nam.

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

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Là rễ, thân, lá và hoa của cây Lá đắng được thu hái tại một số địa điểm ở Đà Nẵng; được đánh số và lưu giữ mẫu tại: Bộ môn Thực vật dược – Dược liệu – Dược cổ truyền, Khoa Dược, Đại học Duy Tân, Thành phố Đà Nẵng.

| Mẫu | LD01 | LD02 | LD03 | LD04 |
|----------|---|---|--|--|
| Nơi hái | Vườn thực vật - Đại học Duy Tân - quận Liên Chiểu - TP. Đà Nẵng | Nhà Tình Thương Suối Hoa – thôn Phú Túc – xã Hòa Phú – huyện Hòa Vang – TP. Đà Nẵng | K560 Trung Nữ Vương – phường Bình Hiên – quận Hải Châu – TP. Đà Nẵng | K498/20 Trần Cao Vân – phường Xuân Hà – quận Thanh Khê – TP. Đà Nẵng |
| Ngày hái | 08/2015 – 04/2016 | 05/04/2016 | 08/11/2016 | 08/11/2016 |

Người thu hái: Kiều Loan, Lê Thị Đại Phương, Lê Thị Mi Chi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu về đặc điểm hình thái thực vật

a. Hình thái bên ngoài

Theo phương pháp quan sát, đo đếm trực tiếp để mô tả các đặc điểm hình thái thực vật của loài.

Áp dụng phương pháp so sánh hình thái, theo các nghiên cứu của tác giả khác để thẩm định lại tên khoa học của loài Lá đắng.

b. Hình thái vi phẫu

Vi phẫu rễ: cắt phần giữa của rễ, không cắt phần có rễ con mọc ra.

Vi phẫu thân: cắt phần non ở lóng.

Vi phẫu cuống lá: cắt phần giữa của cuống lá.

Vi phẫu phiến lá: cắt ngang đoạn 1/3 phía dưới (không sát đáy phiến), gồm gân giữa và một ít hai bên thịt lá.

Nhuộm vi phẫu bằng phương pháp nhuộm kép bằng đỏ carmin-xanh methylen. Quan sát vi phẫu đã nhuộm bằng kính hiển vi quang học Kruss (x10, x40). Chụp hình và vẽ

so đờ cấu tạo. Mô tả đặc điểm vi phẫu của các mô.

Biểu bì lá: Dùng dao lam bóc tách biểu bì trên và biểu bì dưới của lá. Quan sát mảnh biểu bì bằng kính hiển vi quang học Kruss (x40) và chụp ảnh.

c. Đặc điểm bột dược liệu

Lá của các mẫu nghiên cứu được phơi sấy ở nhiệt độ 60°C đến khô, xay mịn và rây qua rây thích hợp để thu được bột mịn đồng nhất. Mô tả các đặc điểm cảm quan bằng mắt thường và các đặc điểm vi học dưới kính hiển vi quang học Kruss(x 40, soi trong nước). Chụp hình trực tiếp qua thị kính và mô tả các cấu tử bột dược liệu.

2.2.2. Khảo sát sơ bộ về thành phần hóa học

a. Khảo sát độ tinh khiết

ĐỘ ẨM

Tiến hành đo độ ẩm bằng cân xác định độ ẩm bằng cân A&D MX-50

Trải mỏng 1 g dược liệu mẫu LD01 đã được nghiền mịn lên đĩa cân, đo độ ẩm, thực hiện ba lần và lấy giá trị trung bình. Sau mỗi lần thực hiện phải để máy nguội khoảng 10 phút rồi mới thực hiện mẫu kế tiếp.

ĐỘ TRO

Xác định tro toàn phần theo phụ lục 9.8, ĐBVN IV [13].

Các kết quả đều lấy trung bình của ba lần thử độc lập.

b. Khảo sát sơ bộ về thành phần hóa học

Thực hiện trên 50 g dược liệu mẫu LD01 - LD04 và xác định các nhóm hoạt chất trong các dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo qui trình phân tích thành phần hóa thực vật của Cuiley cải tiến bởi Khoa Dược - Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh [14].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đặc điểm hình thái thực vật

3.1.1. Đặc điểm hình thái bên ngoài

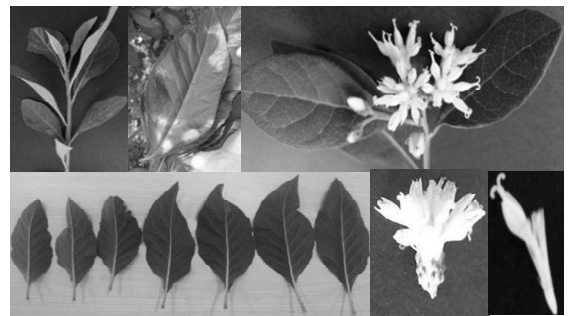
Đặc điểm hình thái thực vật của các mẫu Lá đắng thu hái tại Đà Nẵng (mẫu LD01 - LD04) tương đồng với nhau.

Bảng 1. Đối chiếu đặc điểm hình thái *Vernonia amygdalina* Delile và các mẫu nghiên cứu thu hái tại Đà Nẵng

| Đặc điểm | <i>Vernonia amygdalina</i> | Mẫu nghiên cứu |
|----------|--|--|
| Thân | Cây bụi hay cây gỗ nhỏ, cao 1,5-3 m. Thân vừa phải phân nhiều nhánh, thân cây non có góc cạnh, gần như nhẵn ở dưới, nhiều lông bao phủ bên ngoài. [1], [15] | Cây thân gỗ nhỏ, cao 1,5-3 m, mọc đứng, có tiết diện tròn. Thân non có màu xanh, có nhiều lông bao phủ bên ngoài. Thân già có màu xám, có nốt sần. |
| Lá | Lá mọc cách, nhiều hình dạng và kích thước, hình mác, một số hình trứng, kích thước 3-17x1,3-7 cm, đỉnh lá nhọn, mép lá có khía răng cưa, mặt trên lá nhẵn, có nhiều lông mềm, mặt dưới của lá và gân có màu nhạt hơn, có lông, vị hơi đắng. Cuống lá dài 1-4 cm, có nhiều lông mịn. [1], [15] | Lá đơn, mọc cách. Phiến lá hình trứng, đỉnh nhọn, 3-22x1,5-9,5cm. Lá có màu xanh, mặt trên đậm hơn mặt dưới. Bìa phiến có khía răng cưa nhỏ. Hệ gân lá lông chim, nổi rõ mặt dưới. Lá có lông mềm, vị rất đắng. Không có lá kèm. Cuống lá có màu xanh hình trụ, phía trên hơi dẹp, dài khoảng 1,5-3 cm, có nhiều lông nhỏ. |

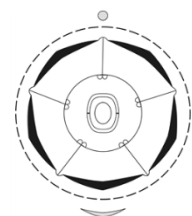
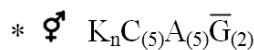
| Hoa | Cụm hoa đầu với nhiều lá bắc nhỏ, dài 0,1-0,2 cm; có mùi thơm, có cuống ngắn. Đầu mang hoa có 11-35 hoa lưỡng tính, hình chuông rộng 0,2-0,5 cm, màu trắng kem. Tổng bao 25-30 lá bắc xếp 4-5 hàng, hình trứng hoặc hình chữ nhật hoặc nhọn, dài 0,4-0,6 cm, màu xanh hơi nâu ở đỉnh, hình dải hẹp, vòng trong dài hơn vòng ngoài. [1] | Cụm hoa đầu hình trứng khi lá non, mọc ở nách lá gần ngọn cành. Tổng bao lá bắc 3-4 hàng, xếp kết lợp, hình bầu dục, màu xanh, mặt ngoài có nhiều lông trắng, mịn. Hoa đều, lưỡng tính, mẫu 5, có mùi thơm. Cuống hoa ngắn, hình trụ, màu xanh, có lông. Đài hoa biến thành chùm lông. 5 cánh hoa đều, màu trắng, dính ở phía dưới tạo thành ống, dài khoảng 5-6 mm. Phía trên hơi loe ra và chia thành 5 thùy, hình tam giác, dài khoảng 3 mm. Tiền khai hoa van. Bộ nhị gồm 5 nhị đều, dính nhau ở bao phấn tạo thành 1 ống bao quanh vòi nhụy (bộ nhị 1 4,5-5 mm, với 5 chỉ nhị, bao phấn dính nhau thành ống dài 3-4 mm, dính nhau ở đuôi. Chỉ nhị dài 11-14,5 mm; bao phấn thuôn dài hình elip, kích thước 2-2,5x0,5-0,9 mm. Vòi nhụy dài 8-9,5 mm, phía trên tách ra mang 2 đầu nhụy. [1] |
|-----|--|---|
| | Quả bé hình elip thuôn dài, 3-4x0,5-1 mm, quả có 10 gân. Túm lông với những sợi lông cứng loe ra ở đầu. [1] | Bộ nhị gồm 5 nhị đều, dính nhau ở bao phấn tạo thành 1 ống bao quanh vòi nhụy (bộ nhị 1 4,5-5 mm, với 5 chỉ nhị, màu trắng. Chỉ nhị dính với ống trắng hoa. Bao phấn 2 ô, màu trắng, dính đáy, hướng trong. Hạt phần hình cầu gai, màu trắng, đường kính khoảng 25-30µm. Bộ nhụy gồm 2 lá noãn dính nhau tạo thành bầu dưới 1 ô, mỗi ô chứa 1 noãn, dính noãn gốc. Bầu nhụy màu trắng, hình trụ, dài khoảng 2-4 mm. Trên đỉnh bầu có đĩa mật hình mâm màu vàng nhạt. Vòi nhụy dạng sợi, màu trắng, dài 8mm, phía trên tách ra mang 2 đầu nhụy. Đầu nhụy dạng sợi dài 2-3 mm. Quả bé, thuôn dài khoảng 2-3 mm, có chùm lông ở đầu. |

Qua khảo sát hình thái bên ngoài của các mẫu cây thu hái, đối chiếu mô tả của các tác giả khác [1], loài Lá đắng hiện nghiên cứu có tên khoa học là *Vernonia amygdalina* Delile, họ Cúc (Asteraceae).



Hình 1. Cành, lá và hoa

Hoa thược:



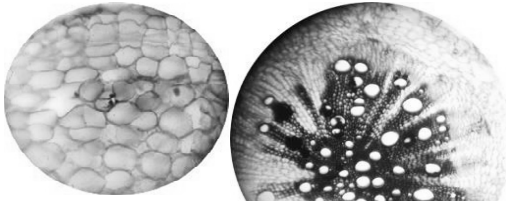
Hình 2. Hoa đờ

3.1.2. Hình thái vi phẫu

Đặc điểm hình thái vi phẫu của các mẫu Lá đắng thu hái tại Đà Nẵng (mẫu LD01- LD04) tương đồng với nhau.

a. Rễ

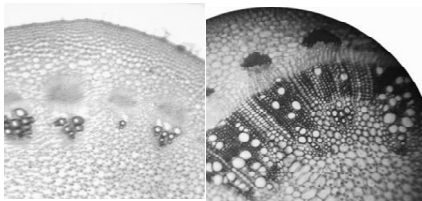
Vi phẫu hình tròn. Bần là những lớp tế bào hình chữ nhật, xếp xuyên tâm, thường bong tróc. Lục bì là những lớp tế bào hình chữ nhật vách bằng cellulose hơi uốn lượn, xếp xuyên tâm với bần. Mô mềm vô khuyết tế bào hình bầu dục nằm ngang, vách mỏng. Trụ bì, 2-3 lớp tế bào to, không đều. Tia tủy, 3-5 dãy tế bào hình đa giác xếp theo hướng xuyên tâm. Libe 2 tế bào vách mỏng, xếp xuyên tâm tạo thành nhiều chùy không đều. Gỗ 2 chiếm tâm. Gỗ 1 khó phân biệt.



Hình 3. Bần và gỗ 2 chiếm tâm ở rễ già

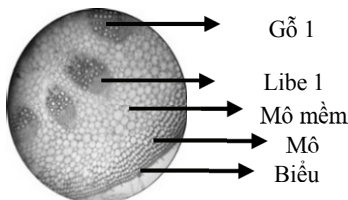
b. Thân

Vi phẫu hình gần tròn. Biểu bì 1 lớp tế bào chữ nhật, kích thước nhỏ, lớp cutin mỏng. Trên biểu bì có nhiều lông che chở đa bào. Ở thân già, tầng phát sinh bần-lục bì sinh ra bần và lục bì, tế bào hình chữ nhật xếp thành dãy xuyên tâm và vòng đồng tâm. Mô dày góc 4-5 lớp tế bào hình đa giác, không đều. Mô mềm đạo tế bào hình bầu dục hoặc gần tròn kích thước không đều. Trụ bì hóa mô cứng thành từng cụm không đều trên libe 1. Libe 1 tế bào đa giác, kích thước nhỏ, bị ép dẹp, xếp lộn xộn. Libe 2 tế bào hình chữ nhật vách bằng cellulose xếp xuyên tâm. Gỗ 2 tế bào hình chữ nhật, xếp thành dãy xuyên tâm và vòng đồng tâm, mạch gỗ 2 kích thước to nhỏ không đều, xếp lộn xộn. Tia tủy gồm 3-4 dãy tế bào, tách libe thành từng cụm. Gỗ 1 tập trung thành từng cụm dưới chùy libe, phân hóa ly tâm, 1 số mô mềm gỗ 1 vách vẫn còn cellulose. Mô mềm tủy hóa mô cứng chiếm một vùng rộng, tế bào hình tròn hoặc gần tròn, kích thước không đều.



Hình 4. Cấu tạo thân non và thân già

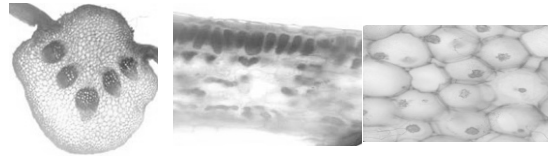
c. Lá



Hình 5. Cấu tạo gân giữa của lá

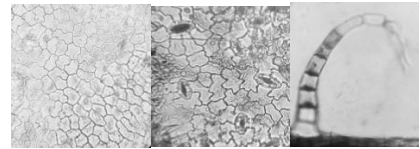
Gân giữa: Mặt trên lồi cao, hơi bằng ở đỉnh, mặt dưới phình tròn. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào spong hình chữ nhật hay bầu dục kích thước không đều. Lông che chở đa bào. Mô dày trên và dưới là mô dày góc, 3-5 lớp tế bào hình đa giác, kích thước gần đều. Mô mềm đạo tế bào hình tròn có kích thước to. Bó dẫn gồm 6-8 bó libe gỗ. Gỗ ở trong, mạch gỗ hình tròn, hoặc bầu dục, thường xếp thành dãy; mô mềm

gỗ tế bào hình đa giác, vách cellulose. Libe ở ngoài, 2-3 lớp tế bào sát gỗ hình chữ nhật, xếp xuyên tâm, các lớp phía ngoài tế bào hình đa giác nhỏ, xếp lộn xộn.



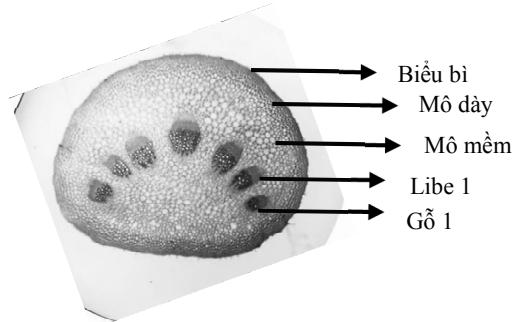
Hình 6. Vi phẫu gân giữa và phiến lá

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới là 1 lớp tế bào hình bầu dục kích thước không đều. Biểu bì dưới có lông che chở đa bào. Mô mềm giậu 1 lớp nằm dưới biểu bì trên. Mô mềm khuyết tế bào hình đa giác hoặc gần tròn xếp tạo những khuyết rộng nối từ mô mềm giậu đến biểu bì dưới. Lỗ khí kiểu hỗn bào, tập trung ở mặt dưới.



Hình 7. Biểu bì trên, dưới và lông che chở ở phiến lá

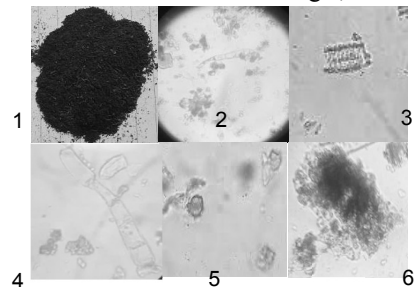
Cuống lá: Vi phẫu cuống lá có hình dạng và cấu tạo gần giống với gân giữa của vi phẫu lá.



Hình 8. Vi phẫu cuống lá

3.1.3. Đặc điểm bột lá

Bột lá khô màu xanh đen, có mùi thơm đặc trưng, vị rất đắng. Soi kính hiển vi có các cấu tử phổ biến như lông che chở đa bào, tinh thể canxi oxalat hình cầu gai, khối mô mềm...



Hình 9. Cấu tử trong bột lá

1. Bột lá; 2. Vi trường bột lá; 3. Mạch xoắn; 4. Lông che chở đa bào; 5. Tinh thể calci oxalat; 6. Mảnh mô mô mềm

Về mặt thực vật có những mô tả đầu tiên về đặc điểm hình thái, vi phẫu và bột dược liệu của Lá đắng tại Việt Nam, bước đầu có thể xác định tên loài là *Vernonia amygdalina* Delile, họ Cúc (Asteraceae). Cơ bản cây cho thấy các đặc điểm giống những mô tả chung về loài *Vernonia amygdalina*, là tiền đề để phân biệt, tránh nhầm lẫn khi sử dụng dược liệu.

3.2. Khảo sát sơ bộ về thành phần hóa học

3.2.1. Khảo sát độ tinh khiết

a. Độ ẩm

Đo độ ẩm mẫu 1 g dược liệu lá cây Lá đắng bằng cân A&D MX-50 ba lần và lấy giá trị trung bình như sau:

Bảng 2. Số liệu thực nghiệm xác định độ ẩm

| Lần đo | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|------------|---------|---------|---------|
| Độ ẩm | 10,64 % | 11,56 % | 12,27 % |
| Trung bình | 11,49 % | | |

Độ ẩm trung bình: 11,49 %

b. Độ tro toàn phần

Hàm lượng tro được tính theo phụ lục 9.8, ĐDVN IV. [13]

Bảng 3. Số liệu thực nghiệm xác định độ tro

| Lần đo | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 |
|------------|--------|--------|--------|
| Độ tro | 0,58 % | 0,61 % | 0,71 % |
| Trung bình | 0,63 % | | |

Độ tro trung bình: 0,63 %

3.2.2. Khảo sát sơ bộ về thành phần hóa học

Khảo sát sơ bộ về thành phần hóa học của các mẫu Lá đắng thu hái tại Đà Nẵng (mẫu LD01- LD04) cho kết quả tương đồng với nhau.

Bảng 4. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học

| Nhóm hợp chất | <i>V. amygdalina</i> [15] | Mẫu nghiên cứu |
|----------------------|---------------------------|----------------|
| Tanin | + | + |
| Saponin | + | + |
| Flavonoid | + | + |
| Cyanogenic glycoside | + | Không thử |
| Alkaloid | + | + |
| Anthranquinone | + | - |
| Steroid | + | - |
| Phenol | + | + |
| Coumarin | Không thử | - |

Ngoài ra, trên mẫu nghiên cứu còn ghi nhận sự tồn tại của các chất khử, acid hữu cơ, triterpenoid,...

Về mặt hóa học, khi khảo sát thành phần sơ bộ hóa thực vật cho thấy cây có chứa tanin, saponin, polyphenol, alkaloid, flavonoid... Cây dược di thực vào Việt Nam nhưng các nhóm hợp chất hóa học của cây khá tương đồng với các nghiên cứu khác trên thế giới. Bước đầu hy vọng hàm lượng các chất có hoạt tính và tác dụng sinh học của cây di thực tại Việt Nam không khác biệt so với cây bản địa.

4. Kết luận

Đề tài trên các mẫu cây Lá đắng được thu hái tại Đà Nẵng đạt được các kết quả như sau:

Đã thu thập và tham khảo các kênh tài liệu của các nhà nghiên cứu trong và ngoài nước về đặc điểm thực vật, vi phẫu, thành phần hóa học, tác dụng dược lý của *Vernonia amygdalina*. Theo đó, các tiềm năng về thành phần và tác dụng dược lý trong *Vernonia amygdalina* là đáng kể.

Tiến hành thu hái, mô tả thực vật đối chiếu với các mô tả của tác giả khác. Qua nghiên cứu đã xác định cây trồng này đúng là loài *Vernonia amygdalina* Delile, họ Cúc (Asteraceae).

Đã khảo sát được đặc điểm hình thái, vi phẫu của rễ, thân, lá và hoa của cây Lá đắng. Các mẫu Lá đắng thu hái ở các

địa điểm khác nhau trong cùng TP. Đà Nẵng đều có các đặc điểm trên tương đồng nhau, điều này có thể giúp nhận dạng và phân biệt đối tượng nghiên cứu với các dược liệu khác, góp phần tránh nhầm lẫn khi thu hái và sử dụng.

Bước đầu góp phần xây dựng tiêu chuẩn cho dược liệu lá cây Lá đắng với một vài tiêu chuẩn cơ bản nhất (cảm quan, bột dược liệu, độ ẩm, độ tro toàn phần) nhằm mục đích tiêu chuẩn hóa nguồn dược liệu này.

Đã sơ bộ khảo sát thành phần hóa học trong lá cây Lá đắng. Theo đó cây Lá đắng tại thành phố Đà Nẵng chứa polyphenol, saponin, flavonoid, alkaloid..., ngoài ra cây cũng cho các phản ứng dương tính với các nhóm chất khử, tanin, acid hữu cơ... Điều này định hướng cho việc phân lập các nhóm hợp chất cũng như so sánh hàm lượng hoạt chất của cây di thực tại Việt Nam với cây bản địa ở các đề tài sau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bandana Bhattacharjee, P. Lakshminarasimhan, Avishek Bhattacharjee, D.K. Agrawala and M.K. Pathak, (2013), "*Vernonia amygdalina* Delile (Asteraceae) – An African medicinal plant introduced in India", *ZOO's PRINT*, vol.28, no.5, pp. 18-20.
- [2] Abdulmalik O, Oladapo OO, and Bolaji MO, (2016), "Effect of aqueous extract of *Vernonia amygdalina* on atherosclerosis in rabbits", *ARYA Atheroscler*, vol. 12, no.1, pp. 35-40.
- [3] Adesanoye OA, and Farombi EO, (2014), "In Vitro Antioxidant Properties of Methanolic Leaf Extract of *Vernonia amygdalina* Del.", *Nigerian journal of physiological sciences*, vol. 29, no.2, pp. 91-101.
- [4] Asante DB, Effah-Yeboah E, Barnes P, Abban HA, Ameyaw EO, Boampong JN, Ofori EG, and Dadzie JB, (2016), "Antidiabetic Effect of Young and Old Ethanolic Leaf Extracts of *Vernonia amygdalina*: A Comparative Study", *Journal of Diabetes Research 2016*, p. 8252741.
- [5] Challand S, and Willcox M, (2009), "A clinical trial of the traditional medicine *Vernonia amygdalina* in the treatment of uncomplicated malaria", *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, vol. 15, no.11, pp. 1231-1237.
- [6] Egedigwe CA, Ijeh II, Okafor PN, and Ejike CE, (2016), "Aqueous and methanol extracts of *Vernonia amygdalina* leaves exert their anti-obesity effects through the modulation of appetite-regulatory hormones", *Pharmaceutical Biology*, pp.1-5.
- [7] Farombi EO, and Owoeye O, (2011), "Antioxidative and chemopreventive properties of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia biflavonoid*", *The International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 8, no.6, pp. 2533-2555.
- [8] Gresham LJ, Ross J, and Izevbigie EB, (2008), "*Vernonia amygdalina*: anticancer activity, authentication, and adulteration detection", *The International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 5, no.5, pp. 342-348.
- [9] Ngatu NR, Okajima MK, Yokogawa M, Hirota R, Takaishi M, Eitoku M, Muzembo BA, Sabah AB, Saruta T, Miyamura M, Kaneko T, Sano S, and Suganuma N, (2012), "Anti-allergic effects of *Vernonia amygdalina* leaf extracts in hapten-induced atopic dermatitis-like disease in mice", *Allergy International*, vol. 61, no.4, pp. 597-607.
- [10] Omoregie ES, and Pal A, (2016), "Antiplasmodial, antioxidant and immunomodulatory activities of ethanol extract of *Vernonia amygdalina* del. Leaf in Swiss mice", *Avicenna Journal of Phytomedicine*, vol. 6, no.2, pp. 236-247.
- [11] Toyang NJ, and Verpoorte R. (2013), "A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae)", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 146, no.3, pp. 681-723.
- [12] Wong FC, Woo CC, Hsu A, and Tan BK, (2013), "The anti-cancer activities of *Vernonia amygdalina* extract in human breast cancer cell lines are mediated through caspase-dependent and p53-independent pathways", *PLoS One*, vol. 8, no.10, pp. e78021
- [13] Bộ Y tế, (2010), Dược điển Việt Nam IV, trang 182-183.
- [14] Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược - Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh, (2015), Phương pháp nghiên cứu dược liệu, trang 28-35.
- [15] C.E. Offor, (2014), "Comparative Chemical Analyses of *Vernonia amygdalina* and *Azadirachta indica* Leaves", *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, vol. 9, pp. 73-77.