ISSN 1859 - 4735

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 4 - TẬP 30
8/2025

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP
PGS.TS. Đỗ Thị Hà

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**
- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**
- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**
- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**
- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

MỤC LỤC TẬP 30, SỐ 4/2025
(Trang 225 - 304)

CONTENTS VOL. 30 (4), 2025
(Pages 225 - 304)

Trang	TỔNG QUAN	Page	REVIEW
227	**Cây thuốc có berberin và vấn đề phát triển bền vững nguồn nguyên liệu chiết xuất hợp chất này ở Việt Nam hiện nay** - *Nguyễn Tập, Nguyễn Thị Vân Anh, Nguyễn Huy Văn, Nguyễn Thị Hà Ly, Nguyễn Ngọc Thanh, Vàng Quốc Tuấn, Phạm Ngọc Khánh, Võ Quang Trung, Đặng Ngọc Phái, Trịnh Thị Quỳnh, Huỳnh Minh Đạo*	227	**The Medicinal Plants Containing Berberine and the Matter of Sustainable Development of Material Sources for Its Extraction in Vietnam Today** - *Nguyen Tap, Nguyen Thi Van Anh, Nguyen Huy Van, Nguyen Thi Ha Ly, Nguyen Ngoc Thanh, Vang Quoc Tuan, Pham Ngoc Khanh, Vo Quang Trung, Dang Ngoc Phai, Trinh Thi Quynh, Huynh Minh Dao*
	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC		**SCIENTIFIC RESEARCH**
237	**Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc cát căn sao vàng** - *Lê Thị Loan, Phan Thị Trang, Nguyễn Thị Phương, Trần Hữu Khánh Tân, Nguyễn Thế Chung, Nguyễn Minh Khởi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài*	237	**Establishment of an In-House Standard for *Radix Puerariae thomsonii Praeparata* (Yellow-Roasted)** - *Le Thi Loan, Phan Thi Trang, Nguyen Thi Phuong, Tran Huu Khanh Tan, Nguyen The Chung, Nguyen Minh Khoi, Do Thi Ha, Nguyen Van Tai*
246	**Nghiên cứu xây dựng phương pháp định tính và định lượng α-spinasterol 3-*O*-β-D-glucopyranosid trong dược liệu đảng sâm Việt Nam** - *Nguyễn Đình Quân, Nguyễn Thị Phương*	246	**Development of Qualitative and Quantitative Analysis Methods for α-Spinasterol 3-*O*-β-D-glucopyranoside in *Radix Codonopsis javanicae*** - *Nguyen Dinh Quan, Nguyen Thi Phuong*
254	**Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc ba kích chích muối** - *Phan Thị Trang, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu Trang, Trần Hữu Khánh Tân, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Minh Khởi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài*	254	**Establishment of an In-House Standard for *Radix Morindae officinalis Praeparata* (Salt-Processed)** - *Phan Thi Trang, Le Thi Loan, Nguyen Thi Thu Trang, Tran Huu Khanh Tan, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Minh Khoi, Do Thi Ha, Nguyen Van Tai*
268	**Nghiên cứu tác dụng long đờm và giảm ho của cát cánh di thực trên thực nghiệm** - *Lê Thị Xoan, Nguyễn Thị Phượng, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Văn Tài, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Hùng Sơn, Đào Văn Núi*	268	**Study on the Expectorant and Antitussive Effects of *Platycodon grandiflorum* Cultivated in Vietnam in Experimental Models** - *Le Thi Xoan, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Van Hiep, Pham Thi Nguyet Hang, Nguyen Van Tai, Nguyen Thi Thu Trang, Nguyen Hung Son, Dao Van Nui*
272	**Đánh giá tác dụng hỗ trợ cải thiện thoái hóa khớp trên thực nghiệm của mạn kinh tử** - *Đỗ Thị Hồng Khánh, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Bùi Thanh Tùng*	272	**Evaluation of the Effect of *Vitex trifolia* L. Fruits on Osteoarthritis Improvement in an Experimental Model** - *Do Thi Hong Khanh, Pham Thi Nguyet Hang, Bui Thanh Tung*
281	**Tác dụng hạ acid uric máu của cao chiết phối hợp hy thiêm, ké đầu ngựa và thổ phục linh trên thực nghiệm** - *Dương Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thành Triết*	281	**Anti-Hyperuricemic Effect of the Extract Containing *Siegesbeckia orientalis*, *Xanthium strumarium*, and *Smilax glabra*** - *Duong Thi Thanh Tam, Nguyen Thanh Triet*
287	**Nghiên cứu bào chế giảm vị đắng cao rau đắng biển bằng hệ phân tán rắn với chất mang eudragit E100** - *Nguyễn Thị Lê, Xa Thị Phương Thảo, Lê Thị Kim Vân*	287	**Masking the Bitter Taste of *Bacopa* Extract by Solid Dispersion System with Eudragit E100 as Carrier** - *Nguyen Thi Le, Xa Thi Phuong Thao, Le Thi Kim Van*
296	**Ghi nhận bổ sung loài húng đơn cho hệ thực vật Việt Nam có giá trị làm thuốc** - *Huỳnh Minh Đạo, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thanh Tùng, Phạm Thu Hương, Võ Văn Sỹ*	296	***Coleus monostachyus* (P.Beauv.) A.J.Paton - A Record of Medicinal Plant Species for the Flora of Vietnam** - *Huynh Minh Dao, Nguyen Hoang Tuan, Nguyen Thi Thu, Nguyen Thanh Tung, Pham Thu Huong, Vo Van Sy*
301	***Curculigo sinensis S.* C. Chen, ghi nhận bổ sung một loài cây thuốc cho Việt Nam** - *Đặng Việt Cường, Nguyễn Văn Hiếu, Tô Minh Tú, Trần Văn Lộc, Đặng Minh Tú, Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Hải Vân, Bùi Văn Thanh, Ngô Đức Phương, Nghiêm Đức Trọng, Hoàng Diệu Linh, Nguyễn Minh Khởi*	301	***Curculigo sinensis* S. C. Chen, a New Record of Medicinal Plant Species for the Flora of Vietnam** - *Dang Viet Cuong, Nguyen Van Hieu, To Minh Tu, Tran Van Loc, Dang Minh Tu, Pham Ngoc Khanh, Nguyen Hai Van, Bui Van Thanh, Ngo Duc Phuong, Nghiem Duc Trong, Hoang Dieu Linh, Nguyen Minh Khoi*

Tạp chí Dược liệu, tập 30, số 4/2025 (Trang 237 - 245)

XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VỊ THUỐC CÁT CĂN SAO VÀNG

Lê Thị Loan, Phan Thị Trang, Nguyễn Thị Phương, Trần Hữu Khánh Tân, Nguyễn Thế Chung, Nguyễn Minh Khởi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài*

Viện Dược liệu

*Email: nguyenvantai1111@gmail.com

Nhận bài: 05/6/2025 Chấp nhận đăng: 25/7/2025

Tóm tắt

Mục tiêu của nghiên cứu là xây dựng tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) cho vị thuốc cát căn sao vàng (CCSV) theo hướng dẫn của các dược điển. Các chỉ tiêu lựa chọn trong tiêu chuẩn cơ sở gồm có mô tả, soi bột, định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, độ ẩm, độ tro toàn phần, chất chiết được trong nước, chất chiết được trong ethanol 70% và định lượng puerarin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao kết nối detector UV (HPLC-UV-Vis). Tiến hành phân tích các chỉ tiêu trên sáu mẫu CCSV được chế biến theo hướng dẫn của Thông tư 30/2017/TT-BYT của Bộ Y tế để xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho vị thuốc CCSV và áp dụng phân tích chất lượng hai mẫu CCSV thu mua trên thị trường.

Từ khóa: *Tiêu chuẩn cơ sở; Cát căn sao vàng; Định tính; Định lượng.*

Summary

Establishment of an In-House Standard for *Radix Puerariae thomsonii Praeparata* (Yellow-Roasted)

This research aims to establish an in-house standard for *Radix Puerariae thomsonii Praeparata* (CCSV) according to the guidelines of Pharmacopoeia. The selected criteria include description, powder, identification by thin layer chromatography, moisture, total ash, water-soluble extractive, 70% ethanol-soluble extractive, and qualification and quantification of puerarin using high-performance liquid chromatography with an UV-Vis detector (HPLC-UV-Vis). Six samples of CCSV, processed according to the guidelines of Circular 30/2017/TT-BYT issued by the Ministry of Health, were analyzed and evaluated based on the seven criteria. From the obtained results, an in-house standard for CCSV was proposed and applied to the analysis of two samples of CCSV purchased from the market.

Keywords: *In-house standard; Radix Puerariae thomsonii praeparata; Qualitative; Quantitative.*

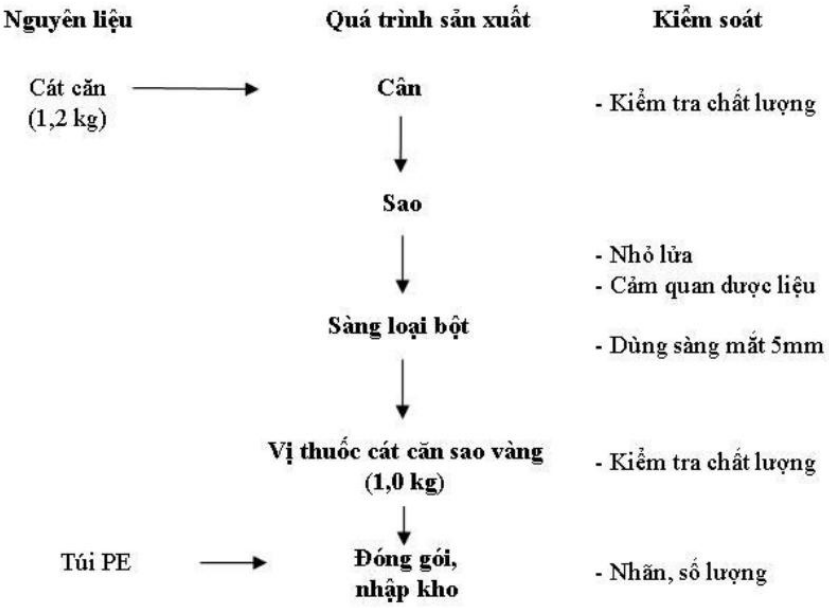
1. Đặt vấn đề

Dược liệu cát căn (*Radix Puerariae thomsonii*) được quy định là rễ củ đã phơi hoặc sấy khô của cây sắn dây (*Pueraria thomsonii* Benth.) [1]. Theo y học cổ truyền, dược liệu thường được sử dụng ở dạng chế biến. Đối với cát căn, Thông tư 30/2017/TT-BYT của Bộ Y tế quy định hai vị thuốc gồm cát căn phiến là dược liệu sắn dây rửa sạch, ngâm ngập vào nước khoảng 30 phút, rửa sạch, để ráo nước, thái phiến dài khoảng 3 - 5 cm, dầy 3 - 4 mm, phơi hoặc sấy khô) và cát căn sao vàng (CCSV) là cát căn phiến được sao trên lửa nhỏ cho đến khi mặt ngoài có màu hơi vàng, lấy ra, để nguội, sàng loại bỏ bột [2]. Mục đích của việc chế biến cát căn phiến là để dễ bảo quản, giảm tính phát hãn của vị thuốc và tạo mùi thơm vị thuốc [2],[3]. Hiện nay, dược điển các nước như Việt Nam (DĐVN V), Trung Quốc (DĐTQ 2020) và bộ tiêu chuẩn dược liệu Hồng Kông (TCHK 2020) đều có chuyên luận dược liệu cát căn, trong đó DĐVN V chưa có chỉ tiêu định lượng [3],[4],[5]. Tuy nhiên, chỉ có DĐTQ 2020 có quy định các chỉ tiêu về chất lượng cho vị thuốc cát căn phiến tương tự dược liệu cát căn, bao gồm các chỉ tiêu về độ ẩm, tro toàn phần, chất chiết được, hàm lượng puerarin không thấp hơn 0,3%. Đặc biệt, đến nay chưa có dược điển nào có chuyên luận riêng cho vị thuốc CCSV. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm bước đầu xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho vị thuốc CCSV, trong đó chú ý đến chỉ tiêu định lượng hoạt chất puerarin, giúp cho công tác kiểm tra đánh giá chất lượng vị thuốc CCSV ở Việt Nam chặt chẽ hơn.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu dược liệu cát căn (lô 001/2023, Công ty cổ phần dược liệu Indochina, Việt Nam). Mẫu được kiểm nghiệm đạt tiêu chuẩn chất lượng theo chuyên luận cát căn trong DĐVN V, hàm lượng puerarin đạt 0,25%. Hai mẫu CCSV (**CCT1-2**) được mua trên thị trường tại hai cửa hàng khác nhau trên phố Lãn Ông, Hà Nội. Sáu mẫu CCSV (**CCC1-6**) được chế biến tại Trung tâm Ứng dụng Khoa học Công nghệ Dược liệu - Viện Dược liệu, theo phương pháp được quy định trong Thông tư 30/2017/TT-BYT của Bộ Y tế hướng dẫn phương pháp chế biến các vị thuốc cổ truyền [6]. Quy trình chế biến được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Quy trình chế biến vị thuốc CCSV

2.2. Hóa chất

Chất chuẩn dùng trong nghiên cứu gồm có puerarin (CAS: 3681-99-0, LOT: CFN99169, độ tinh khiết 98,0%) của hãng Chemfaces (Trung Quốc). Các dung môi, hóa chất dùng cho HPLC đều của hãng Merck (đạt chuẩn HPLC); các dung môi, hoá chất dùng để xử lý mẫu đều đạt tiêu chuẩn hóa chất tinh khiết phân tích (p.a.). Nước tinh khiết đã qua hệ thống deion.

2.3. Thiết bị

Thiết bị chính dùng trong nghiên cứu là hệ thống HPLC (Shimadzu, Nhật Bản) gồm bơm LC-20AD, bộ tiêm mẫu tự động SIL-20AHT, detector UV-Vis, phần mềm Labsolution để truy xuất hình ảnh và số liệu từ hệ thống.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Mô tả:

Mô tả cảm quan (hình dạng, kích thước, màu sắc, mùi, vị) và các đặc điểm bề ngoài khác, tiến hành theo những quy định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu của DĐVN V [3].

2.4.2. Soi bột:

Tiến hành theo DĐVN V, Phụ lục 12.18: Lấy một lượng nhỏ bột (qua rây số 250), cho vào một giọt dung dịch soi (nước) đã có sẵn trên lam kính, dùng kim mũi mác dàn đều cho bột thấm dung dịch, đậy lam kính, di nhẹ lam kính rồi quan sát dưới kính.

2.4.3. Định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng:

Tiến hành theo DĐVN V, Phụ lục 5.4.

Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{524}$

Hệ dung môi: Ethyl acetat - ethanol - nước (tỷ lệ 12 : 2 : 1 theo thể tích) [5].

Dung dịch thử: Cân khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 20 mL methanol, chiết siêu âm trong 30 phút. Lọc thu dịch chiết, cô cạn dung môi, hòa tan cắn bằng 1,5 mL methanol để chấm sắc ký.

Dung dịch chất chuẩn: hòa tan puerarin chuẩn trong methanol để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/mL.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µL mỗi dung dịch mẫu thử và dung dịch chất đối chiếu lên bản mỏng, tiến hành sắc ký theo DĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi hệ dung môi triển khai được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm và 366 nm. Để xác định dương tính, mẫu phải cho vết có màu sắc và giá

trị R_f tương ứng với màu sắc và giá trị R_f của puerarin.

2.4.4. Độ ẩm:

Tiến hành theo DĐVN V, Phụ lục 9.6, xác định mất khối lượng do làm khô [3].

2.4.5. Tro toàn phần:

Tiến hành theo DĐVN V, Phụ lục 9.8, xác định tro toàn phần - Phương pháp 1, sử dụng khối lượng mẫu thử là 1 g [3].

2.4.6. Chất chiết được trong nước và ethanol 70%:

Tiến hành theo DĐVN V, Phụ lục 12.10, chiết nóng trong dung môi nước và dung môi cồn 70% [3].

2.4.7. Hàm lượng puerarin (định lượng puerarin bằng phương pháp HPLC-UV-Vis):

Thực hiện theo phương pháp quy định trong chuyên luận dược liệu cát căn của DĐTQ 2020 [4]. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, do đối tượng nghiên cứu là các mẫu CCSV, nên khi áp dụng điều kiện xử lý mẫu và điều kiện phân tích HPLC- UV trong Dược điển Trung Quốc có thẩm định lại phương pháp theo hướng dẫn của ICH và AOAC tại điều kiện của phòng thí nghiệm dùng trong nghiên cứu, nhằm đảm bảo phương pháp phân tích là phù hợp để đánh giá hàm lượng puerarin trong mẫu CCSV.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,8000 g bột dược liệu, thêm 50 mL ethanol 30%, cân xác định khối lượng. Chiết hồi lưu trong 90 phút. Để nguội về nhiệt độ phòng. Cân lại và bổ sung khối lượng ethanol 30% bị mất. Lọc qua màng lọc 0,45 µm thu được dung dịch mẫu thử.

Dung dịch chuẩn: cân chính xác khoảng 5,00 mg chất đối chiếu, hòa tan trong 5 mL ethanol 30% thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1000 µg/mL. Pha loãng với ethanol 30% thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng từ 20 - 400 µg/mL.

Điều kiện sắc ký: Cột HPLC C_{18} (250 x 4,6 mm, 5 µm) của hãng Agilent; bước sóng phát hiện 250 nm; thể tích tiêm mẫu: 10 µL; tốc độ dòng: 1 mL/phút; nhiệt độ lò cột 40ºC; pha động gồm acetonitril (ACN) và nước tỉ lệ 10 : 90 (v/v).

* Phương pháp HPLC-UV-Vis được thẩm định theo hướng dẫn của ICH và tham chiếu theo các quy định trong AOAC, gồm các chỉ tiêu: tính thích hợp của hệ thống, độ đặc hiệu, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng, đường chuẩn, độ lặp lại, hiệu suất thu hồi [6, 7].

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Hàm lượng (%) từng chất trong mẫu thử được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{C_x \times V \times 100 \times P}{m \times 10^6 \times (100 - B)} \times 100 \qquad \text{(CT 3)}$$

Trong đó: X(%) là hàm lượng của puerarin tương ứng có trong mẫu thử; C_x là nồng độ của puerarin có trong dung dịch mẫu thử tính từ phương trình đường chuẩn (µg/mL); V là thể tích dung dịch chiết mẫu (mL); m là khối lượng mẫu thử (g); B là độ ẩm của mẫu thử (%); P là độ tinh khiết của chất chuẩn (P=0,98).

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Mô tả

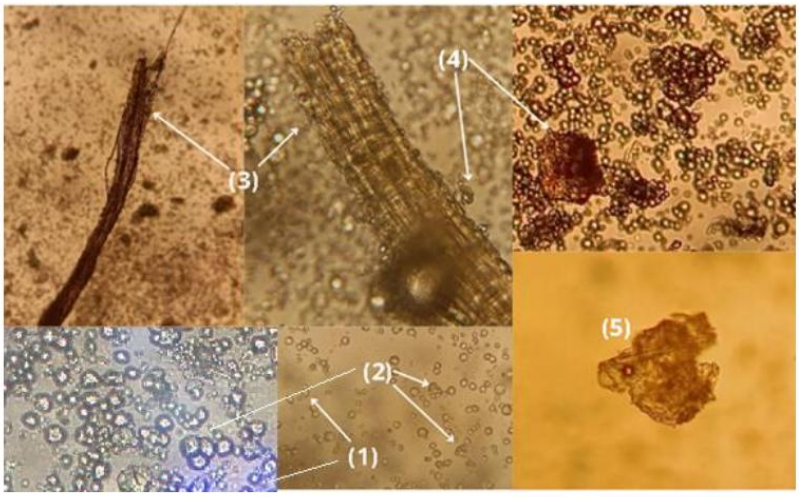
Vị thuốc CCSV là rễ củ của cây sắn dây sau khi thu hái đã được rửa sạch, cạo bỏ vỏ, thái thành phiến mỏng, đem đi xông diêm sinh rồi phơi hoặc sấy khô thu được cát căn phiến, sao đều cát căn phiến với lửa nhỏ đến khi xuất hiện màu vàng đều, lấy ra, để nguội, sàng loại bỏ bột thì thu được CCSV.

Các lát vị thuốc CCSV thường có hình chữ nhật, chiều rộng khoảng từ 2 - 3 cm, chiều dài khoảng 4 - 8 cm, độ dày từ 3 - 4 mm. Màu trắng hơi ngả vàng, màu sắc thường không đồng đều giữa các lát dược liệu, phần viền hơi xù xì, đôi khi còn sót lại lớp bần màu nâu, có sẹo do rễ con để lại. Mặt cắt ngang có màu trắng, có nhiều sợi. Thể chất cứng, nặng, dễ bẻ gãy hoặc tước thành dạng sợi, nhiều bột, không vị, mát, mùi thơm nhẹ. Các đặc điểm này phù hợp với mô tả vị thuốc CCSV trong Thông tư số 30/2017/TT-BYT ngày 11/7/2017 [2].

Hình 2. Ảnh chụp các mẫu CCSV

3.2. Soi bột

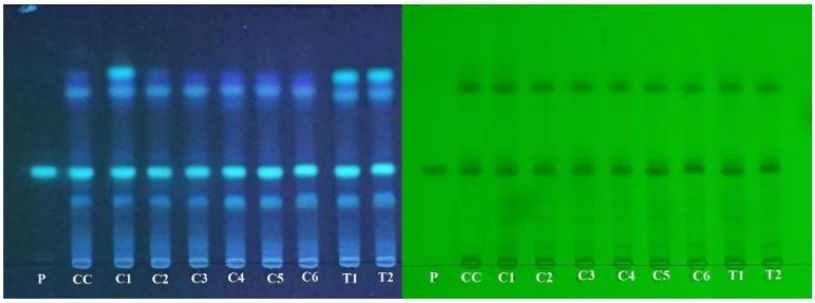
Bột dược liệu CCSV có màu trắng hơi vàng, không vị, mùi thơm đặc trưng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các đặc điểm: hạt tinh bột đơn, hình tròn, đơn chỏm cầu hoặc hình sao nhiều cạnh (**1**); hạt tinh bột kép gồm 2 - 10 hạt tinh bột đơn tụ lại thành một khối hình cầu, hình tròn hoặc hình sao nhiều cạnh (**2**), sợi dược liệu thường tụ thành bó, thành dày và hóa gỗ, xung quanh là các tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ tạo thành các sợi tinh thể (**3**), tinh thể calci oxalat (**4**), tế bào đá hình nhiều cạnh hoặc gần tròn, mạch khá rộng, có đường viền lõm vào, vết lõm hình 6 cạnh hoặc hình elip được xếp rất dày đặc (**5**).



Hình 3. Đặc điểm bột dược liệu CCSV

3.3. Định tính bằng TLC

Để định tính các mẫu CCSV, chúng tôi tham khảo phương pháp được quy định trong chuyên luận cát căn - TCHK 2020, tiến thành theo quy trình ở mục 2.4.2, sử dụng hệ dung môi: Ethyl acetat - ethanol - nước (tỷ lệ 12 : 2 : 1 theo thể tích). Sắc ký đồ được trình bày trong Hình 4.



Hình 4. Sắc ký đồ TLC định tính các mẫu CCSV

(P: chuẩn puerarin; CC: mẫu cát căn chưa chế biến; C1-6: 06 mẫu CCSV; T1-2: Mẫu CCSV mua trên thị trường).

Kết quả thu được cho thấy, sắc ký đồ TLC tách rõ các vết, đặc biệt, vết ứng với chất chuẩn puerarin tách tốt trên nền mẫu vị thuốc CCSV. Tám mẫu CCSV (T1-2 và C1-6) có vết chính tương ứng về R_f và màu sắc phát huỳnh quang với chất chuẩn puerarin (P). Điều này chứng tỏ phương pháp định tính bằng TLC với hệ dung môi lựa chọn là phù hợp để định tính các mẫu CCSV.

3.4. Độ ẩm, tro toàn phần, chất chiết được trong nước và ethanol 70%

Kết quả phân tích các chỉ tiêu về độ ẩm, tro toàn phần, chất chiết được trong nước, chất chiết được trong ethanol 70% của 08 mẫu CCSV (CCC1-6 và CCT1-2) được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả độ ẩm, tro toàn phần, chất chiết được trong nước và ethanol 70% của CCSV

STT	Mẫu	Độ ẩm (%, n=3)	Tro toàn phần (%, n=3)	Chất chiết được trong nước (%, n=3)	Chất chiết được trong ethanol 70% (%, n=3)
1	CCC1	9,87 ± 0,08	3,19 ± 0,04	68,06 ± 2,75	13,51 ± 0,15
2	CCC2	11,81 ± 0,10	3,10 ± 0,11	68,23 ± 1,97	13,87 ± 0,34
3	CCC3	11,34 ± 0,08	3,07 ± 0,06	64,21 ± 2,81	13,99 ± 0,34
4	CCC4	11,25 ± 0,06	3,24 ± 0,10	68,73 ± 2,11	16,60 ± 0,71
5	CCC5	11,84 ±0,10	2,97 ± 0,10	69,54 ± 2,79	14,10 ± 0,39
6	CCC6	11,22 ± 0,06	3,23 ± 0,06	65,71 ± 3,49	14,09 ± 0,38
7	CCT1	5,94 ± 0,08	2,83 ± 0,02	68,27 ± 2,63	14,12 ± 0,07
8	CCT2	10,94 ± 0,09	2,81 ± 0,04	64,63 ± 1,62	16,90 ± 0,43

Kết quả thu được cho thấy các mẫu CCSV của Trung tâm Ứng dụng Khoa học Công nghệ Dược liệu cũng như trên thị trường được thử nghiệm có độ ẩm đều đạt dưới 12% (5,94-11,84%). DĐTQ 2020 quy định độ ẩm của dược liệu cát căn không quá 14%, độ ẩm của dược liệu cát căn thái phiến không quá 12%. Từ đó, giới hạn về độ ẩm của vị thuốc CCSV được đề xuất là không quá 12,0%.

Kết quả độ tro toàn phần của các mẫu CCSV nằm trong khoảng 2,97% đến 3,24%. Hiện chưa có dược điển nào có chuyên luận về CCSV nhưng độ tro toàn phần của dược liệu cát căn được các dược điển quy định thường không quá 4-5% [3],[4],[5]. Căn cứ kết quả khảo sát, đề xuất độ tro toàn phần của CCSV không lớn hơn 5%.

Kết quả về chất chiết được trong dung môi nước của các mẫu CCSV cao nhất là 69,54% và thấp nhất là 64,21%. Chuyên luận về dược liệu cát căn trong DĐVN V và DĐTQ không có quy định chỉ tiêu này, TCHK có quy định chất chiết được trong dung môi nước của dược liệu cát căn không thấp hơn 57%. Căn cứ trên kết quả khảo sát chất chiết được trong dung môi nước của CCSV, đề xuất quy định chất chiết được bằng dung môi nước của CCSV không nhỏ hơn 55,0%.

Kết quả cho thấy chất chiết được trong dung

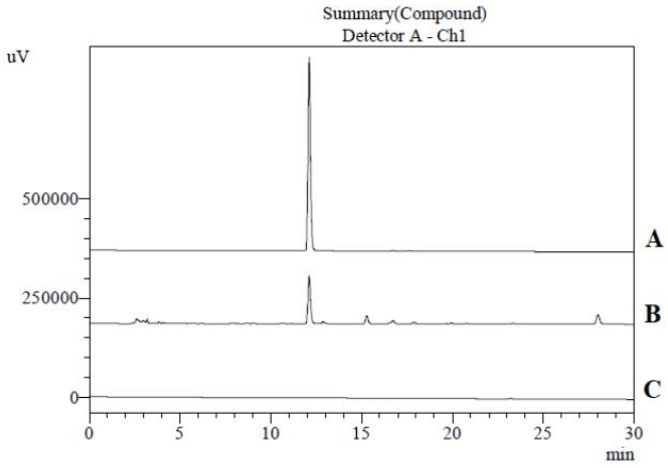
môi ethanol 70% của các mẫu CCSV cao nhất là 16,60% và thấp nhất là 13,51%. Các dược điển và TCHK đều chưa có chuyên luận về CCSV nhưng đối với dược liệu cát căn thì hàm lượng chất chiết được trong dung môi ethanol 70% được DĐTQ quy định không thấp hơn 10% và TCHK quy định không thấp hơn 11%. Căn cứ kết quả khảo sát, đề xuất quy định chất chiết được bằng dung môi ethanol 70% của CCSV không nhỏ hơn 10,0%.

3.5. Hàm lượng puerarin

3.5.1. Thẩm định phương pháp định lượng puerarin bằng HPLC-UV-Vis

a) Độ đặc hiệu

Tiến hành phân tích dung dịch chuẩn puerarin, dung dịch chiết mẫu thử CCC1, dung dịch mẫu trắng methanol với các điều kiện sắc ký và xử lý mẫu đã trình bày trong mục 2.4.6. Kết quả thu được cho thấy tín hiệu pic của puerarin được tách hoàn toàn khỏi các pic phụ trên sắc ký đồ dung dịch mẫu thử dược liệu (Hình 5). Pic của chất cần phân tích trên SKĐ mẫu chuẩn và mẫu thử có dạng đơn pic và có phổ hấp thụ UV giống nhau. SKĐ của mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chất cần phân tích. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, có xuất hiện thêm các pic khác không phải pic của chất chuẩn nhưng đã tách hoàn toàn khỏi pic và đáp ứng các yêu cầu chung của phương pháp sắc ký lỏng được quy định trong Dược điển.



Hình 5. Sắc ký đồ đánh giá độ đặc hiệu của phương pháp
(A: Mẫu chuẩn, B: mẫu thử, C: mẫu trắng)

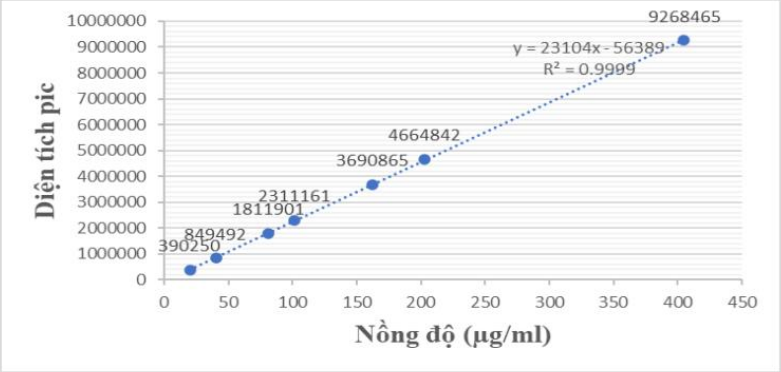
b) Đường chuẩn

Chuẩn bị một dãy các dung dịch chứa chất chuẩn puerarin có nồng độ từ 20,24 µg/mL đến 404,8 µg/mL. Tiến hành phân tích HPLC-UV-Vis các dung dịch chuẩn này, ghi nhận giá trị diện tích pic phụ thuộc theo nồng độ để xây dựng đường chuẩn của puerarin. Kết quả được trình bày trong Bảng 2 và đường chuẩn được biểu diễn trong Hình 6 có giá trị R^2 lớn hơn 0,999, hệ số $P_{value\ (số\ chắn)} > 0,05$ chứng tỏ phương trình đường chuẩn xây dựng được không mắc sai số hệ thống và có độ tuyến tính cao, khoảng nồng độ lựa chọn là phù hợp để áp dụng phân tích định lượng puerarin.

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ tuyến tính

Nồng độ puerarin (µg/mL)	Diện tích Pic (mAu.s)	Nồng độ puerarin tính lại từ đường chuẩn (µg/mL)	Độ chệch (%)
20,24	390250	19,33	-0,04
40,48	849492	39,21	-0,03
80,96	1811901	80,86	0
101,20	2311161	102,47	0,01
161,92	3690865	162,19	0

Nồng độ puerarin (µg/mL)	Diện tích Pic (mAu.s)	Nồng độ puerarin tính lại từ đường chuẩn (µg/mL)	Độ chệch (%)
202,40	4664842	204,35	0,01
404,80	9268465	403,60	0
Phương trình đường chuẩn		y = 23104x - 56389	
Hệ số tương quan		R^2 = 0,9999	



Hình 6. Đường chuẩn puerarin

c) Tính thích hợp của hệ thống

Tiến hành tiêm lặp lại 6 lần mẫu dung dịch chuẩn có nồng độ 80,96 µg/mL, ghi lại thời gian lưu và diện tích pic. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra tính thích hợp hệ thống

STT	Diện tích pic (mAu.s)	Thời gian lưu (phút)
1	1804153	12,170
2	1808645	12,184
3	1799555	12,138
4	1805997	12,165
5	1809819	12,177
6	1826395	12,179
Trung bình	1809094	12,169
RSD (%)	0,09	0,01

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thời gian lưu là 0,01% (đạt yêu cầu ≤ 1,0%), của diện tích pic là 0,09% (đạt yêu cầu ≤ 2,0%). Đánh giá lại quy trình xử lý mẫu, quy trình tiến hành phân tích và điều kiện phân tích HPLC đã nêu trong mục 2.4.6, trên hệ thống HPLC và phòng thí nghiệm tại Khoa Hóa Thực vật, Viện Dược liệu cho thấy điều kiện sắc ký đã lựa chọn và hệ thống HPLC sử dụng là phù hợp và đảm bảo độ ổn định của phép phân tích.

d) Độ lặp lại

Tiến hành định lượng 6 lần trên cùng 1 mẫu thử, kết quả được trình bày ở Bảng 4 cho thấy có sự nhất quán vì cùng một phép đo được thực hiện nhiều lần bởi một người vẫn cho độ lặp lại tốt, đạt yêu cầu độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của hàm lượng chất cần phân tích có trong các mẫu ≤ 2,0%, vì vậy phương pháp đã phù hợp để định lượng puerarin trong CCSV.

Bảng 4. Kết quả đo độ lặp lại

Lần thí nghiệm	Độ ẩm (%)	Khối lượng dược liệu (g)	Diện tích pic (mAu.s)	Nồng độ (µg/mL)	Hàm lượng (%)
1	11,25	0,8011	657154	30,88	0,22
2	11,25	0,8020	669658	31,43	0,22
3	11,25	0,8010	646857	30,44	0,21
4	11,25	0,8013	672672	31,56	0,22
5	11,25	0,8001	637057	30,01	0,21
6	11,25	0,8015	666868	31,30	0,22
TB ± SD (%)					0,216 ± 0,004
RSD (%)					1,90

e) Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Phân tích mẫu thử đã được xác định nồng độ puerarin, sau đó pha loãng dần đến khi trên sắc kí đồ của dung dịch thử, tại thời gian lưu của puerarin, xác định được tỷ lệ S/N = 3 - 4 và S/N = 10. Từ đó tìm được LOD và LOQ. Mỗi mẫu làm lặp lại 3 lần và lấy kết quả trung bình (Bảng 5).

Bảng 5. Kết quả xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

	Nồng độ (µg/mL)	Hàm lượng (%)
LOD	0,08	0,00058
LOQ	0,28	0,00191

f) Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được xác định thông qua độ thu hồi. Để xác định độ thu hồi của của phương pháp, mẫu thêm chuẩn được tiến hành bằng cách cân chính xác khoảng 0,8 g bột dược liệu, thêm chính xác một lượng chất đối chiếu puerarin ở dung dịch chuẩn, quá trình thêm chuẩn được chuẩn bị ở 3 mức nồng độ tương ứng 10%, 50% và 100% so với hàm lượng chất phân tích có trong mẫu thử CCSV để thẩm định phương pháp. Sau đó tiến hành xử lý mẫu thêm chuẩn và mẫu không thêm chuẩn như mô tả ở mục 2.2. Tiến hành phân tích HPLC mẫu thêm chuẩn và mẫu không thêm chuẩn. Độ đúng của phương pháp được đánh giá thông qua hiệu suất thu hồi, kết quả trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả xác định độ thu hồi

Nồng độ thêm vào (µg/mL)	Nồng độ phát hiện được (µg/mL)	Độ thu hồi (%)	M ± SD (%)	RSD (%)
3,10	2,97	95,81	95,81 ± 0,67	0,65
3,10	2,99	96,45		
3,10	2,95	95,16		
15,50	14,81	95,55	95,94 ± 0,37	0,36
15,50	14,88	96,00		
15,50	14,92	96,26		
31,00	30,20	97,42	97,80 ± 1,09	1,07
30,20	29,90	99,01		
30,80	29,87	96,98		

Theo quy định của AOAC, các chất có hàm lượng đạt 0,1%, 1% và 10% thì hiệu suất thu hồi phải đạt lần lượt từ 90-108%, 92-105% và 95-102%. Kết quả thu được trong Bảng 6 cho thấy các hiệu suất thu hồi puerarin (có hàm lượng nằm trong khoảng 0,1% đến 1%) đều đạt trong khoảng từ 95-105% (cụ thể đạt từ 95,81% đến 97,80%), chứng tỏ phương pháp xây dựng có độ đúng cao, phù hợp dùng cho phân tích định lượng puerarin trong CCSV.

3.4.2. Đánh giá hàm lượng hoạt chất puerarin trong các mẫu CCSV

Áp dụng phương pháp HPLC-UV-Vis đánh giá hàm lượng puerarin trong một số mẫu CCSV. Kết quả thu được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Hàm lượng puerarin trong một số mẫu CCSV

TT	Ký hiệu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng (%) M ± SD (n=3)
1	CCC1	9,87	0,28 ± 0,01
2	CCC2	11,81	0,29 ± 0,01
3	CCC3	11,34	0,33 ± 0,01
4	CCC4	11,25	0,22 ± 0,01
5	CCC5	11,84	0,24 ± 0,01
6	CCC6	11,22	0,26 ± 0,01
7	CCT1	5,94	0,51 ± 0,02
8	CCT2	10,94	0,41 ± 0,01

Hàm lượng puerarin trong sáu mẫu CCSV chế biến tại Trung tâm Ứng dụng Khoa học và Công nghệ Dược liệu đạt từ 0,22 - 0,33%. Hai mẫu CCSV trên thị trường có hàm lượng puerarin đạt 0,41% và 0,51%. Hàm lượng puerarin trong sáu mẫu CCSV chế biến tại đơn vị đạt từ 0,22 - 0,33%, kết quả này cho thấy hàm lượng puerarin trong các mẫu CCSV này tương đương với hàm lượng puerarin trong các mẫu sắn dây đã được công bố [8],[9],[10].

Mặc dù chưa có dược điển cũng như bộ tiêu chuẩn nào có chuyên luận về CCSV nhưng đối với dược liệu cát căn, TCHK 2020 quy định chỉ tiêu hàm lượng puerarin không thấp hơn 0,16%, các DĐTQ quy định chỉ tiêu hàm lượng puerarin không thấp hơn 0,30%. Căn cứ kết quả khảo sát, đề xuất quy định hàm lượng puerarin trong CCSV không thấp hơn 0,16%.

4. Kết luận

Đã bước đầu xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở cho vị thuốc CCSV bao gồm các chỉ tiêu: mô tả, soi bột, định tính, độ ẩm, tro toàn phần, chất chiết được trong nước, chất chiết được trong ethanol 70% và hàm lượng puerarin. Tiêu chuẩn cơ sở của vị thuốc CCSV được đề xuất có độ ẩm không quá 12%, tro toàn phần không quá 5%, chất chiết được trong nước không thấp hơn 55,0%, chất chiết được trong ethanol 70% không thấp hơn 10,0%. Định tính puerarin bằng TLC (hệ dung môi ethyl acetat - ethanol - nước (tỷ lệ 12 : 2 : 1 tt/tt). Định lượng puerarin bằng HPLC, hàm lượng puerarin không thấp hơn 0,16%. Kiểm tra một số mẫu vị thuốc CCSV trên thị trường theo TCCS này cho thấy các chỉ tiêu đều đạt trên 0,16%.

Lời cảm ơn: *Nghiên cứu được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ để tài cấp Viện Dược liệu "Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn cho vị thuốc Y học cổ truyền, Hợp đồng số 02/2023/HĐ-NVBG-HTV ngày 03/8/2023".*

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ H. B., Đặng Q. C., Bùi X. C., Nguyễn T. D., Đỗ T. Đ., Phạm V. H., Vũ N. L., Phạm D. M., Phạm K. M., Đoàn T. N., Nguyễn T., Trần T. (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc, Tập II*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 680-686.

2. Bộ Y tế (2017), *Thông tư số 30/2017/TT-BYT ngày 11/7/2017 hướng dẫn phương pháp chế biến các vị thuốc cổ truyền.*

3. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V, Chuyên luận cát căn*, NXB Y học, 1310.

4. Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. China Medical Science Press. (2020), 1, 394.

5. Chinese Medicine Regulatory Office. Hong Kong Chinese Materia Medica Standards. (2011), 3.

6. ICH (2005), *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*, ICH Harmonized Tripartite guidelines, 1-13.

7. AOAC International (2013), *Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals*, *PART I: AOAC Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals.*

8. Phạm Q. T., Hà T. H., Hà Q. L., Nguyễn Q. T., Phương T. T., Nguyễn M. N., Trần Q. H., Lương P. V., Đinh T. Q. A., Nguyễn Đ. H., (2019), Xây dựng phương pháp định lượng đồng thời puerarrin, daidzin và daidzein trong rễ củ sắn dây trên hệ thống máy HPLC-PDA, *Tạp chí Dược liệu*, 24 (4), 216-220.

9. Li Y., Kumar P., Liu Y., Qiu J., Ran Y., Yuan M., Fang X., Tan X., Zhao R., Zhu J., He M., (2022), Tailoring enhanced production and identification of isoflavones in the callus cultures of *Pueraria thomsonii* Benth and its model verification using response surface methodology (RSM): a combined *in vitro* and statistical optimization. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 37.

10. Du G., Xhao H. Y., Zhang Q. W., Li G. H., Yang F. Q., Wang Y., Li Y. C., Wang Y. T., (2010), A rapid method for simultaneous determination of 14 phenolic compounds in *Radix Puerariae* using microwave - assisted extraction and ultra high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and time - of - flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (5), 705-714.