



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.

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 - 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
	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC		SCIENTIFIC RESEARCH
237	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vi thuốc cắt căn sao vàng - Lê Thị Loan, Phan Thị Trang, Nguyễn Thị Phương, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thế Chung, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài	237	Establishment of an In-House Standard for <i>Radix Puerariae thomsonii</i> <i>Præparata</i> (Yellow-Roasted) - Lê Thị Loan, Phan Thị Trang, Nguyễn Thị Phương, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thế Chung, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài
246	Nghiên cứu xây dựng phương pháp định tính và định lượng α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid trong dược liệu đẳng 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 <i>Radix Codonopsis javanicæ</i> - Nguyễn Đình Quân, Nguyễn Thị Phương
254	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vi thuốc ba kích chích muối - Phan Thị Trang, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu Trang, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài	254	Establishment of an In-House Standard for <i>Radix Morindae officinalis</i> <i>Præparata</i> (Salt-Processed) - Phan Thị Trang, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu Trang, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài
268	Nghiên cứu tác dụng long đờm và giảm ho của cát cánh di thực trên thực nghiệm - Lê Thị Xoa, Nguyễn Thị Phương, 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 <i>Platycodon grandiflorum</i> Cultivated in Vietnam in Experimental Models - Lê Thị Xoa, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Văn Tài, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Hùng Sơn, Đào Văn Núi
272	Đánh giá tác dụng hỗ trợ cải thiện thoái hóa khớp trên thực nghiệm của mạn kinh tử - Đỗ Thị Hồng Khanh, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Bùi Thanh Tùng	272	Evaluation of the Effect of <i>Vitex trifolia</i> L. Fruits on Osteoarthritis Improvement in an Experimental Model - Đỗ Thị Hồng Khanh, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Bùi Thanh Tùng
281	Tác dụng hạ acid uric máu của cao chiết phổi hợp hỷ 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 <i>Siegesbeckia orientalis</i> , <i>Xanthium strumarium</i> , and <i>Smilax glabra</i> - Dương Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thành Triết
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 <i>Bacopa</i> Extract by Solid Dispersion System with Eudragit E100 as Carrier - Nguyễn Thị Lê, Xa Thị Phương Thảo, Lê Thị Kim Vân
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	<i>Coleus monostachyus</i> (P.Beauv.) A.J.Paton - A Record of Medicinal Plant Species for the Flora of Vietnam - Huỳnh Minh Đạo, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thanh Tùng, Phạm Thu Hương, Võ Văn Sỹ
301	<i>Curculigo sinensis</i> 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 Văn, Bùi Văn Thanh, Ngô Đức Phương, Nghiêm Đức Trọng, Hoàng Diệu Linh, Nguyễn Minh Khôi	301	<i>Curculigo sinensis</i> S. C. Chen, a New Record of Medicinal Plant Species for the Flora of Vietnam - Đặng Việt Cường, Nguyễn Văn Hiếu, Tô Minh Tú, Trần Văn Lộc, Đặng Minh Tú, Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Hải Văn, Bùi Văn Thanh, Ngô Đức Phương, Nghiêm Đức Trọng, Hoàng Diệu Linh, Nguyễn Minh Khôi

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH TÍNH VÀ ĐỊNH LƯỢNG α -SPINASTEROL 3-O- β -D-GLUCOPYRANOSID TRONG DƯỢC LIỆU ĐĂNG SÂM VIỆT NAM

Nguyễn Đình Quân^{1*}, Nguyễn Thị Phương²

¹Khoa Dược, Trường Đại học Đại Nam;

²Viện Dược liệu

*Email: quandn.dkh@gmail.com

Nhận bài: 18/06/2025

Chấp nhận đăng: 28/07/2025

Tóm tắt

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xây dựng phương pháp định tính và định lượng α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid (SG) trong dược liệu đăng sâm Việt Nam (*Radix Codonopsis javanicae*) lần lượt bằng phương pháp TLC và LC-MS. Với phương pháp định tính, hệ pha động diclormethan - methanol (9:1, v/v), thuốc thử H₂SO₄ 10%/ ethanol được lựa chọn để định tính SG bằng phương pháp TLC. Với phương pháp định lượng bằng LC-MS, nguồn ion hoá ESI (-), phương pháp theo dõi ion đơn SIM (Selected ion monitoring), theo dõi mảnh mẹ có m/z là 619,5 đã được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn của AOAC. Đường chuẩn xây dựng có độ tuyến tính cao ($R^2 > 0,99$). Phương pháp có độ lặp lại cao với RSD% là 2,99%. Độ thu hồi của phương pháp nằm trong khoảng 91,2 - 102,5%. Kết quả định lượng SG trong các mẫu đăng sâm Việt Nam cho thấy hàm lượng dao động trong khoảng 0,016 - 0,031%.

Từ khóa: Đăng sâm Việt Nam; *Radix Codonopsis javanicae*; TLC; LC-MS; α -Spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid.

Summary

Development of Qualitative and Quantitative Analysis Methods for α -Spinasterol 3-O- β -D-glucopyranoside in *Radix Codonopsis javanicae*

In this study, we developed qualitative and quantitative methods for the analysis of α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranoside (SG) in Vietnamese Dang Shen (*Radix Codonopsis javanicae*) using thin-layer chromatography (TLC) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), respectively. For the TLC method, a mobile phase of dichloromethane-methanol (9:1, v/v) and 10% H₂SO₄ in ethanol as the visualization reagent was employed to identify SG based on its characteristic spot. For quantification, the LC-MS method utilized electrospray ionization (ESI) in negative mode with selected ion monitoring (SIM), targeting the parent ion at m/z 619.5. The method was validated according to AOAC guidelines, showing excellent linearity ($R^2 > 0.99$), good repeatability (%RSD = 2.99%), and high recovery (91.2-102.5%). SG content in the tested Vietnamese Dang Shen samples ranged from 0.016% to 0.031%.

Keywords: *Radix Codonopsis javanicae*; TLC; LC-MS; α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranoside.

1. Đặt vấn đề

Chi *Codonopsis*. Blume có 44 loài trên thế giới, phân bố chủ yếu ở vùng cận nhiệt đới và ôn đới ẩm châu Á và châu Âu. Rễ củ của một số loài *Codonopsis* được sử dụng trong y học cổ truyền với tên gọi đăng sâm như *C. lanceolata*, *C. pilosula*, *C. ussuriensis*, *C. tangshen*, *C. subglobosa* [1]. Ở Việt Nam, có 3 – 4 loài, trong đó một loài là cây nhập nội, các loài còn lại là cây mọc tự nhiên, trong đó loài đăng sâm Việt Nam (*Codonopsis javanica*) đã được sử dụng từ lâu trong dân gian với nhiều công dụng quý như điều hòa huyết áp, tăng cường sức lực [1]. Các nghiên cứu về thành phần hoá học cho thấy, trong rễ đăng sâm Việt Nam có chứa các hợp chất polyacetylen (codojavanyol, lobetyol, lobetyolin, lobetyolinin, cordifolioidyn B) [2], các phytosterol (α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid, β -sitosterol, α -spinasterol,

stigmasta-7,25-dien-3-ol) [3],[4],[5], các phenolic (syringin, syringaresinol, ampelopsin, hesperidin) [2],[3],[4] và các hợp chất khác như taraxerol, adenosin, acid arachidic, acid 6-hydroxyoctadecanoic [4],[5],[6]...

Đăng sâm Việt Nam đang được trồng nhiều ở các vùng núi của nước ta như núi Ngọc Linh, Đà Lạt, Hà Giang... Đây là dược liệu có năng suất cao và giá trị kinh tế lớn. Hiện nay, các nghiên cứu trên thế giới chủ yếu đánh giá hàm lượng các polyacetylen (lobetyolin) mà chưa quan tâm nhiều đến các hợp chất phytosterol trong đăng sâm. Trong các hợp chất phytosterol đã được tìm thấy trong Đăng sâm Việt Nam, hợp chất α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid đã được chứng minh có các tác dụng như chống viêm, bảo vệ gan [7],[8]. Do đó, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành xây dựng phương pháp định tính và định lượng α -spinasterol 3-O- β -D-

glucopyranosid để góp phần nâng cao việc đánh giá chất lượng cũng như cung cấp thêm các cơ sở khoa học để tiêu chuẩn hoá dược liệu đẳng sâm Việt Nam.

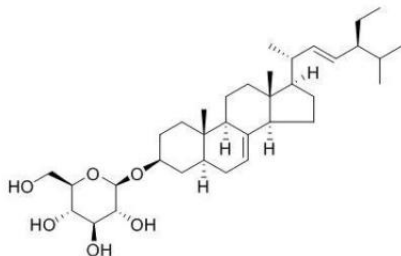
2. Đối tượng, nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là mẫu dược liệu đẳng sâm Việt Nam (*Radix Codonopsis javanicae*) đã được xác định tên khoa học và lưu trữ tại Trung tâm ứng dụng khoa học công nghệ dược liệu, Viện Dược liệu từ tháng 6/2023. Các mẫu dược liệu đẳng sâm Việt Nam được thu hái tại Quảng Nam. Tất cả các mẫu đều được rửa sạch, sấy khô và bảo quản trong các túi nilon buộc kín tại nơi khô ráo.

2.2. Nguyên vật liệu

Chất chuẩn α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid (SG) do hãng ChemFaces cung cấp, độ tinh khiết đạt 98,0% (CAS: 1745-36-4, LOT: CFS202301) (**Hình 1**). Các dung môi, hóa chất dùng cho LC-MS của hãng Merck (đạt chuẩn LC-MS); các dung môi hóa chất dùng để xử lý mẫu đều đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích (P.A).



Hình 1. Công thức cấu tạo của α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid

2.3. Thiết bị

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao kết nối với khối phổ (LC-MS) của Shimadzu bao gồm: Bơm LC-30AD, hệ thống tiêm mẫu tự động SIL-30AC, bộ phận ổn nhiệt CTO-10A Shimadzu, hệ thống khối phổ LCMS8045, cột pha đảo Shimpack C₁₈ (100 x 2,1 mm; 1,9 μ m) của Shimadzu.

Máy HPTLC chấm mẫu bán tự động CAMAG LINOMAT5 và hệ thống CAMAG REPROSTAR3 kết nối với máy vi tính.

Một số thiết bị khác: Cân phân tích Precisa

XT 220A (độ chính xác 0,1 mg); máy rung siêu âm, có gia nhiệt của Power sonic 405...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Định tính bằng sắc ký lớp mỏng:

Dung dịch thử: Cân 1 g dược liệu vào bình nón, thêm 25 mL methanol 80%. Tiến hành siêu âm 30 phút. Để nguội, lọc dịch và cô lấy cặn. Hoà cặn trong 2 mL methanol thu được dịch chấm sắc ký.

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

Tiến hành chạy sắc ký TLC để định tính SG trong dịch chiết từ dược liệu bằng nhiều hệ dung môi triển khai rồi lựa chọn hệ có sắc ký đồ tốt nhất. Sau khi khai triển, tiến hành phun thuốc thử dung dịch H₂SO₄ 10% trong ethanol, sấy ở 105°C đến khi hiện vết. Quan sát các vết xuất hiện ở ánh sáng thường và bước sóng UV 366 nm, so sánh giá trị hệ số di chuyển R_f so với chất đối chiếu SG.

2.4.2. Xây dựng phương pháp định lượng SG bằng phương pháp LC-MS:

Điều kiện khối phổ: SG được tách trên cột sắc ký pha đảo C₁₈, phát hiện và định lượng bằng LC-MS, với nguồn ion hoá ESI (-), chế độ theo dõi ion đơn SIM (Selected ion monitoring). Lựa chọn mảnh ion mẹ có tín hiệu cao nhất để định lượng SG.

Điều kiện sắc ký: Sử dụng hệ dung môi pha động là ACN và acid formic 0,1%, cột sắc ký Shimpack C₁₈ (100 x 2,1 mm; 1,9 μ m), tiến hành khảo sát một số chương trình gradient nhằm lựa chọn điều kiện sắc ký cho khả năng tách SG tối ưu.

Quy trình xử lý mẫu: Sử dụng phương pháp siêu âm để tiến hành trích ly SG ra khỏi dược liệu. Tiến hành khảo sát dung môi chiết, thời gian chiết và số lần chiết để thu được hàm lượng SG lớn nhất.

Thẩm định phương pháp: Phương pháp đã xây dựng được tiến hành thẩm định theo hướng dẫn của Hiệp hội các nhà hóa học phân tích chính thức (AOAC) với các tiêu chí đánh giá: Tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), khoảng tuyến tính, độ lặp lại và độ thu hồi [9].

2.4.3. Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm Microsoft Excel Office 2020:

$$X \text{ (g chất/100 g dược liệu)} = \frac{C \times 25 \times 20 \times 100 \times 100 \times P}{m \times 10^9 \times (100-B) \times 100}$$

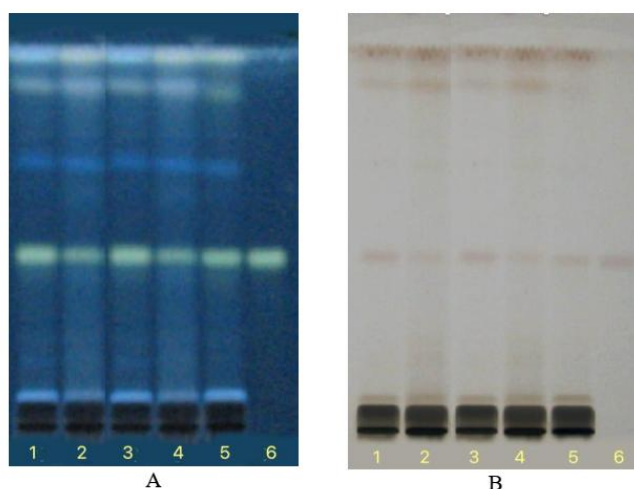
Trong đó: X(%) là Hàm lượng của SG; C là nồng độ SG tính từ phương trình đường chuẩn (ppb); P là độ tinh khiết của chất chuẩn (%); m là Khối lượng mẫu thử (g); B là độ ẩm của mẫu thử (%).

3. Kết quả

3.1. Xây dựng phương pháp định tính SG bằng phương pháp TLC

Tiến hành khảo sát 03 hệ dung môi bao gồm:

Hệ A: Dicloromethan - methanol (9:1, v/v) và hệ B: Cloroform - methanol - amoniac (65:35:10, v/v/v). Kết quả thu được cho thấy, hệ dung môi A cho kết quả sắc ký đồ tách tốt nhất (chất SG có $R_f \sim 0,4$), thời gian triển khai ngắn hơn nên được lựa chọn làm hệ dung môi khai triển. Sắc ký đồ TLC được thể hiện trong Hình 2 cho thấy hệ dung môi này có thể được sử dụng để định tính SG trong đẳng sâm Việt Nam.



Hình 2. Sắc ký đồ TLC định tính SG trong dược liệu đẳng sâm Việt Nam với hệ A
Chú thích: 1-5: Các mẫu đẳng sâm Việt Nam M1-M5; 6: Chất chuẩn SG.
 Quan sát dưới ánh sáng UV 366 nm (A) và ánh sáng thường (B) sau khi phun thuốc thử

3.2. Xây dựng phương pháp định lượng SG bằng LC-MS

3.2.1. Điều kiện khối phổ:

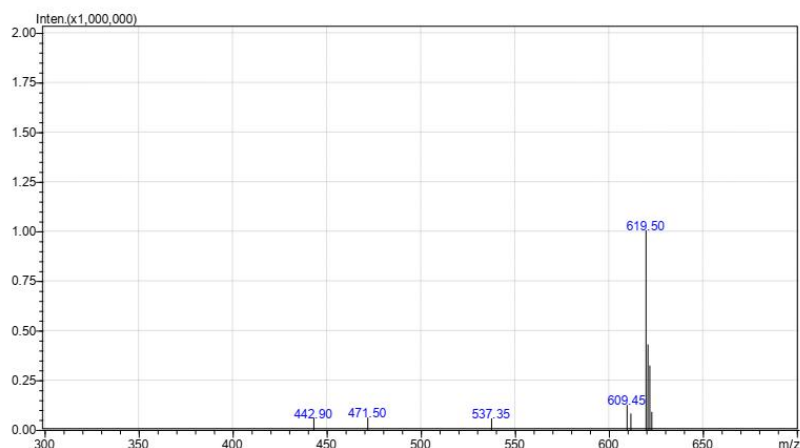
Kỹ thuật FIA (Flow injection analysis) là một kỹ thuật phân tích sử dụng trong HPLC mà không sử dụng cột sắc ký. Ứng dụng trong khảo sát phổ khối, để xác định ion mẹ, dung dịch chuẩn SG có nồng độ 5 ppm được tiến hành tiêm vào hệ thống khối phổ với các điều kiện như sau:

- *Điều kiện sắc ký:* Pha tĩnh: không lấp cột; pha động: ACN: acid formic 0,1% (50 : 50, v/v); tốc độ dòng: 0,4 mL/phút; thể tích tiêm: 1 µL.

- *Điều kiện khối phổ:* Tốc độ dòng khí phun: 3 L/ phút; tốc độ dòng khí làm nóng: 10 L/ phút; tốc độ dòng khí làm khô: 10 L/phút; Nhiệt độ

buồng ion hoá: 400°C; Thế ion hoá -5kV với chế độ ESI (-) và 5 kV với chế độ ESI (+).

Kết quả thu được khi quan sát ở chế độ ESI (-), thấy có mảnh ion mẹ của SG có giá trị m/z là 691,50 tương ứng với mảnh mẹ $[M-H+HCOOH]^-$ có tín hiệu cao nhất, trong khi mảnh $[M-H]^-$ có tín hiệu rất thấp. Sau đó tiếp tục áp dụng kỹ thuật FIA để tiến hành tối ưu hóa điều kiện MS, tuy nhiên tín hiệu các mảnh con thu được rất nhỏ. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn định lượng SG theo mảnh mẹ có m/z là 619,5 mà không cần thông qua các mảnh ion con. Phương pháp này là phương pháp theo dõi ion đơn SIM (Selected ion monitoring), trong đó chỉ tiến hành quan sát mảnh ion mẹ ban đầu và tiến hành định lượng chất phân tích.

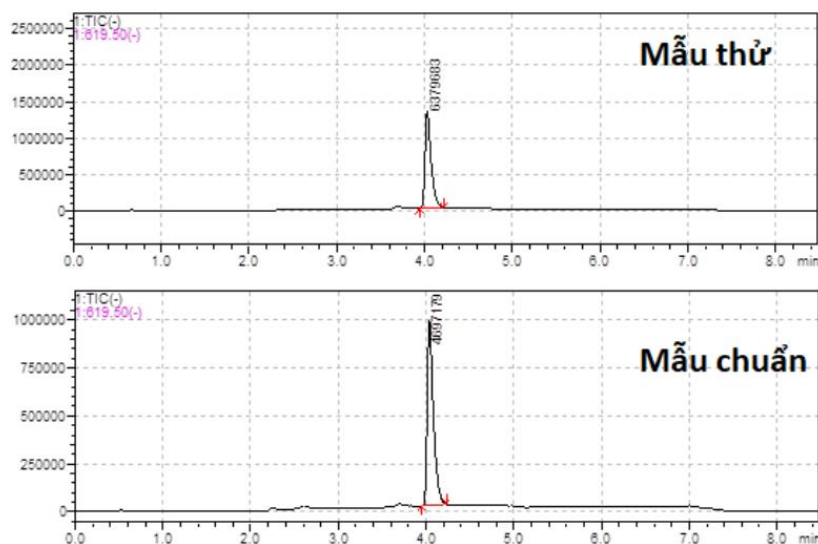


Hình 3. Phổ khối của SG quan sát dưới chế độ ESI (-)

3.2.2. Điều kiện sắc ký:

Sau khi tiến hành khảo sát điều kiện khối phổ, chúng tôi tiến hành khảo sát một số điều kiện sắc ký. Kết quả thu được cho thấy (**Hình 4**), hệ dung môi pha động ACN (Kênh A) và acid formic 0,1% (Kênh B) cho peak SG cân đối, tách tốt

khởi nền mẫu với chương trình gradient như sau : 0 - 1 phút, 60% (kênh A); 1 - 1,5 phút, 60 - 90% (kênh A); 1,5 - 6 phút, 90% (kênh A); 6 - 6,5 phút, 90-60% (kênh A) và 6,5 - 8,5 phút, 60% (kênh A). Tốc độ dòng 0,3 mL/ phút. Thể tích tiêm 5 μ L.



Hình 4. Sắc ký đồ HPLC của dung dịch chuẩn SG và dịch chiết methanol 80% của đảng sâm Việt Nam

3.2.3. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu:

Để tối ưu hóa điều kiện xử lý mẫu, mẫu đảng sâm Việt Nam M1 được lựa chọn để khảo sát ảnh hưởng của dung môi, thời gian chiết và số lần chiết đến hiệu suất chiết SG đã được tiến hành

trong nghiên cứu này. Các dung môi methanol, methanol 80% và methanol 60% được tiến hành khảo sát. Methanol 80% cho thấy hiệu quả chiết cao SG so với các dung môi còn lại. Với thời gian chiết, 60 phút cho thấy hiệu quả chiết SG tốt

nhất. Khi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của hàm lượng SG khi chiết 1 lần, 2 lần và 3 lần (**Bảng 1**).

Bảng 1. Kết quả tối ưu hóa điều kiện xử lý mẫu

Điều kiện khảo sát		Hàm lượng (%) SG
Dung môi chiết	Methanol	0,011 ± 0,002
	Methanol 80%	0,018 ± 0,001
	Methanol 60%	0,013 ± 0,002
Thời gian chiết	30 phút	0,018 ± 0,001
	60 phút	0,024 ± 0,002
	90 phút	0,023 ± 0,002
Số lần chiết	1 lần	0,024 ± 0,002
	2 lần	0,025 ± 0,003
	3 lần	0,025 ± 0,002

*Ghi chú: Kết quả được trình bày dưới dạng Trung bình ± SD.

Như vậy, quy trình xử lý mẫu tối ưu như sau: Cân chính khoảng 0,25 g bột dược liệu (qua rây số 4) vào ống ly tâm 50 mL. Thêm chính xác 25 mL methanol 80%. Cân ống ly tâm. Siêu âm 60 phút. Để nguội, cân và bổ sung khối lượng đã mất bằng methanol 80%. Lọc sơ bộ qua giấy lọc thô. Hút chính xác 0,5 mL dịch lọc vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng methanol 80%. Lọc qua màng lọc cellulose acetat 0,22 µm thu được dung dịch thử.

3.3. Thẩm định phương pháp

3.3.1. Tính phù hợp hệ thống:

Phân tích lặp lại 6 lần hỗn hợp dung dịch chuẩn SG có nồng độ lần lượt là 82 ppb. Kết quả thu được (**Bảng 2**) cho thấy các giá trị RSD đều nhỏ hơn 5,0%, chứng tỏ hệ thống và phương pháp phân tích sử dụng phù hợp cho quá trình phân tích SG trong dược liệu đăng sâm Việt Nam.

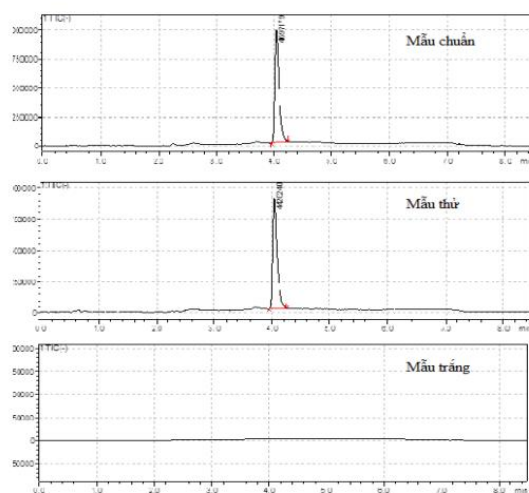
Bảng 2. Kết quả đánh giá độ thích hợp hệ thống của phương pháp

	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 5	Lần 6	Trung bình	RSD(%)
Thời gian lưu (phút)	4,036	4,037	4,036	4,037	4,026	4,035	4,035	0,10
Diện tích pic (mAU.s)	4640740	4697179	4662664	4869277	5050199	4872152	4798701	3,33

3.3.2. Độ đặc hiệu:

Tiến hành sắc ký hỗn hợp dung dịch chuẩn, dung dịch thử, mẫu trắng ta thu được kết quả đánh giá bằng các sắc ký đồ tương ứng (**Hình 5**). Trên sắc ký

đồ thu được cho thấy, dung dịch thử có pic đáp ứng tại thời gian lưu của SG. Trên sắc ký đồ của các mẫu trắng không có tín hiệu của SG chứng tỏ phương pháp và hệ thống sắc ký có tính chọn lọc cao.



Hình 5. Kết quả sắc ký đồ khảo sát độ đặc hiệu

3.3.3. Khoảng tuyến tính: Tiến hành sắc ký các dung dịch chuẩn SG có khoảng nồng độ từ 10,25 - 328 ppb. Mỗi nồng độ tiến hành sắc ký lặp lại 3 lần. Kết quả trong **Bảng 3** cho thấy mối quan hệ tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic và nồng độ chất phân tích trong dung dịch.

Bảng 3. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính

TT	1	2	3	4	5	6
Nồng độ (ppb)	10,25	20,5	41,0	82,0	164,0	328,0
Diện tích peak (mAU.s)	301291	785413	2150826	4640740	8803304	19326630
Độ chệch (%)	14,9	-2,9	4,8	3,3	-5,6	1,1
Đường chuẩn $y = 59469x - 398935$; $R^2 = 0,9985$						

*Trong đó: y là diện tích pic (mAU.s), x là nồng độ chất phân tích (ppb).

3.3.4. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ):

LOD và LOQ là những đại lượng đặc trưng cho độ nhạy của một phương pháp phân tích và được xác định bằng cách pha loãng các dung dịch mẫu thử đã biết nồng độ đến khi thu được tín hiệu phân tích đạt tỷ lệ tín hiệu/nhiều (S/N) trong khoảng 3 và 10 tương ứng với giá trị LOD và LOQ. Kết quả LOD và LOQ của SG lần lượt là 0,22 và 0,66 ppb.

3.3.5. Độ lặp lại:

Độ lặp lại của phương pháp được xác định bằng cách phân tích lặp lại 6 lần mẫu thử được liệu đăng sâm Việt Nam với quy trình phân tích đã xây dựng. Độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của hàm lượng SG được trình bày trong **Bảng 4**. Giá trị RSD% thu được là 2,99 chứng tỏ phương pháp phân tích có độ lặp lại tốt.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ lặp lại

	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 5	Lần 6
Khối lượng (g)	0,2501	0,2514	0,2514	0,2532	0,2505	0,2566
Diện tích pic (mAU.s)	6978671	7209182	7038289	6706251	7108172	7021012
Hàm lượng (%)	0,025	0,026	0,025	0,024	0,026	0,025
Trung bình (%): $0,025 \pm 0,001$; RSD(%): 2,99%						

3.3.6. Độ thu hồi:

Độ thu hồi của phương pháp đặc trưng cho sự sai số của một phương pháp phân tích và được xác định bằng phương pháp thêm chuẩn. Quá trình đánh giá được tiến hành thêm chuẩn ở mức 50%, 100% và 150% so với hàm lượng SG trong mẫu thử. Mẫu được xử lý với quy trình phân tích đã xây dựng, lặp lại 3 lần. Phân

tích đồng thời mẫu thêm chuẩn và mẫu không thêm chuẩn, xác định hàm lượng chất thêm vào dựa trên phương trình đường chuẩn. Kết quả khảo sát độ thu hồi của phương pháp được trình bày trong Bảng 5. Các giá trị độ thu hồi nằm trong khoảng từ 91,2 - 102,5%. Kết quả trên cho thấy, phương pháp phân tích đã xây dựng có độ đúng cao.

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ thu hồi

TT	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Khối lượng (g)	Diện tích peak (mAU.s)	Nồng độ (ppb)	Nồng độ chuẩn tìm lại (ppb)	Độ thu hồi (%)
1	0,03	0,2501	9951214	174,0	54,7	91,2
2	0,03	0,2508	10223561	178,6	58,9	98,2
3	0,03	0,2512	10191129	178,1	58,2	97,0
4	0,06	0,2508	14034301	242,7	123,0	102,5
5	0,06	0,2511	13742032	237,8	118,0	98,3
6	0,06	0,2509	13979908	241,8	122,1	101,7
7	0,09	0,2502	17488137	300,8	181,4	100,8
8	0,09	0,2505	17672385	303,9	184,3	102,4
9	0,09	0,2516	18009199	309,5	189,5	105,3

3.4. Hàm lượng SG trong một số mẫu dược liệu đảng sâm Việt Nam

Tiến hành phân tích hàm lượng SG trong một số mẫu dược liệu đảng sâm Việt Nam thu thập tại

các vùng núi Quảng Nam theo phương pháp LC-MS đã xây dựng được. Các kết quả phân tích được tính toán theo công thức ở mục 2.7 và được trình bày trong **Bảng 6**.

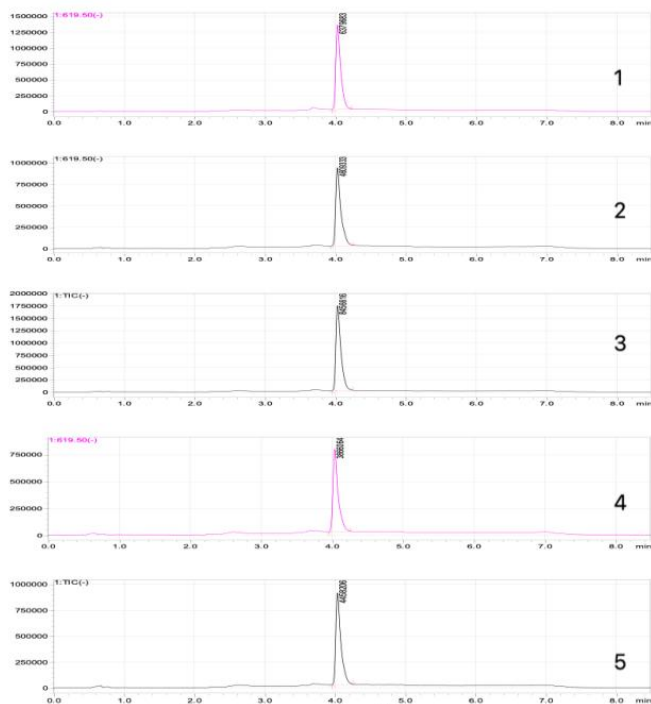
Bảng 6. Hàm lượng (%) SG trong một số mẫu dược liệu đảng sâm Việt Nam

TT	Kí hiệu mẫu	Nơi lấy mẫu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng (%)
1	M1	Trà Cang - Nam Trà My	4,6	0,022 ± 0,002
2	M2	Ch'om - Tây Giang	12,1	0,019 ± 0,001
3	M3	Trà Linh - Nam Trà My	4,9	0,031 ± 0,002
4	M4	Gải - Tây Giang	11,1	0,016 ± 0,003
5	M5	Ch'om - Tây Giang	7,4	0,017 ± 0,001

**Ghi chú: Kết quả được trình bày dưới dạng Trung bình ± SD.*

Kết quả thu được cho thấy hàm lượng SG trong các mẫu đảng sâm Việt Nam thu hái tại Quảng Nam có hàm lượng từ 0,016 - 0,031%. Trong đó, mẫu đảng sâm Việt Nam thu hái tại xã Trà Linh - Nam Trà My, Quảng Nam cho

hàm lượng SG cao nhất là 0,031%. Các kết quả nghiên cứu thu được sẽ góp phần đánh giá chất lượng dược liệu đảng sâm Việt Nam, cũng như hướng tới công tác tiêu chuẩn hóa dược liệu này.



Hình 6. Sắc ký đồ HPLC các mẫu đảng sâm Việt Nam
(Ghi chú: 1-5: Các mẫu đảng sâm Việt Nam M1-M5)

4. Kết luận

Nhóm nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định tính và định lượng SG trong đảng sâm Việt Nam. Về phương pháp định tính bằng TLC, hệ dung môi pha động được lựa chọn cho thấy phù hợp để định tính SG trong đảng sâm Việt Nam, các mẫu đảng sâm Việt Nam thu hái tại Quảng Nam đều cho vết có giá trị R_f và màu sắc tương ứng với mẫu chuẩn. Về phương pháp định

lượng, phương pháp đã xây dựng đáp ứng được yêu cầu của một phương pháp định lượng về độ đặc hiệu, độ lặp lại, độ thu hồi... theo các yêu cầu chung của AOAC. Áp dụng phương pháp trên, nhóm nghiên cứu đã tiến hành định lượng SG trong các mẫu dược liệu đảng sâm Việt Nam. Các kết quả thu được sẽ là cơ sở khoa học góp phần nâng cao việc đánh giá chất lượng dược liệu đảng sâm Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 1, tr.739-744, NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
2. Phan, N. H. T., Thuan, N. T. D., Hien, N. T. T., Huyen, P. V., Duyen, N. H. H., Hanh, T. T. H., Minh, C. V. (2022). Polyacetylene and phenolic constituents from the roots of *Codonopsis javanica*. *Natural Product Research*, 36(9), 2314-2320.
3. Hoàng Minh Chung, Chu Đình Kính, Phạm Xuân Sinh (2010), Phân lập, nhận dạng một dẫn xuất glycosid trong đảng sâm Việt Nam, *Tạp chí Dược liệu*, 15(3): 182-186.
4. Trần Thanh Hà, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Minh Khởi, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Văn Nghị (2014), Thành phần hóa học của rễ đảng sâm. *Tạp chí Dược liệu*, 19(4): 211-215.
5. Trần Thanh Hà, Đỗ Thị Hà, Hà Văn Oanh (2016), Thành phần hóa học của phân đoạn chiết bằng *n*-butanol rễ loài đảng sâm Việt Nam. *Tạp chí Dược học*, 56: 35-38.
6. Nguyễn Thị Thăng Long, Đinh Thị An, Trịnh Thị Diệp (2020), Các hợp chất phân lập từ dịch chiết *n*-hexan của rễ đảng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. F.] thu ở Lâm Đồng, *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế*, 10(1), 14-18.
7. Jung M., Lee T. H., Kim J. Y. (2014), A spinasterol glycoside repressed expression of the chemokine MDC/CCL22 induced by IFN- γ and TNF- α in human keratinocytes and inhibits DNCB-induced allergic skin inflammation (LB545), *The FASEB Journal*, 28(1 supplement), pp. LB545.
8. Lee T. H., Jung M., Bang M. H., Chung D. K., Kim J. (2012), Inhibitory effects of a spinasterol glycoside on lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and proinflammatory cytokines via down-regulating MAP kinase pathways and NF- κ B activation in RAW264. 7 macrophage cells, *International Immunopharmacology*, 13(3), pp. 264-270.
9. AOAC International. (2016). Appendix K: guidelines for dietary supplements and botanicals. *AOAC: Official Methods of Analysis*, 2, 1-32.