

định lượng saponin trong các sản phẩm khác từ sâm Việt Nam nói riêng, cũng như các sản phẩm sâm thuộc chi *Panax* khác.

Lời cảm ơn: Các tác giả chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ cho đề tài nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyen Minh Duc, Nguyen Thoi Nham, Ryoji Kasai, Aiko Ito, Kazuo Yamasaki, and Osamu Tanaka (1993), Saponins from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. Collected in central Vietnam. I. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, (Tokyo). 41(11), 2010-4.
2. Nguyen Minh Duc, Nguyen Thoi Nham, Ryoji Kasai, Aiko Ito, Kazuo Yamasaki, and Osamu Tanaka (1994), Saponins from Vietnamese Ginseng, *Panax vietnamensis* HA et Grushv. Collected in central Vietnam. II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo). 42(1), 115-22.
3. Nguyen Minh Duc, Nguyen Thoi Nham, Ryoji Kasai, Aiko Ito, Kazuo Yamasaki, and Osamu Tanaka (1994), Saponins from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. III. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 42(3), 634-40.
4. Konoshima T., Takasaki M., Tokuda H., Nishino H., Nguyen Minh Duc, Kasai R., Yamasaki K. (1998), Anti-tumor-promoting activity of majonoside-R2 from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (I). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 21(8), 834-8.
5. Le Thi Hong Van, Seo Young Lee, Tae Ryong Kim, Jae Young Kim, Sung Won Kwon, Nguyen Ngoc Khoi, Jeong Hill Park, and Nguyen Minh Duc (2014), Processed Vietnamese ginseng: Preliminary results in chemistry and biological activity. *Journal of Ginseng Research*, 38(2), 154-9.
6. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*. Tập 2, NXB Y học, 1313-1314, PL-147.
7. *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*. 2005.
8. Bộ Y tế, *Sổ tay Hướng dẫn Đăng ký thuốc*. Phụ lục 8. Các phương pháp thẩm định. 2013.
9. Corthout J., Naessens T., Apers S., Vlietinck A. J. (1999), Quantitative determination of ginsenosides from *Panax ginseng* roots and ginseng preparations by thin layer chromatography--densitometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21(1) 187-92.
10. Sun B. S., Gu L. J., Fang Z. M., Wang C. Y., Wang Z., Lee M. R., Li Z., Li J. J., Sung C. K. (2009), Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC-ELSD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50(1), 15-22.
11. Zhang H., Cheng Y. (2006), Solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of saponins in a Chinese patent medicine of formulated *Salvia miltiorrhizae* and *Panax notoginseng*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 40(2), 429-32.

Tạp chí Dược liệu, tập 27, số 3/2022 (Trang 166 - 172)

ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ DƯỢC LIỆU RAU ĐẮNG BIỂN TẠI VIỆT NAM

Hoàng Đức Mạnh¹*, Đào Anh Hoàng¹, Nguyễn Thị Phương¹, Phan Văn Trường¹,
Vũ Thị Diệp¹, Phan Thị Trang¹, Trần Minh Ngọc²

¹Viện Dược liệu; ²Cục Quản lý Y Dược cổ truyền - Bộ Y tế

*Email: manhhd@gmail.com

(Nhận bài ngày 17 tháng 6 năm 2022)

Tóm tắt

Cây rau đắng biển được sử dụng để điều trị nhiều bệnh khác nhau, nhưng đặc biệt được biết đến về tác dụng cải thiện trí nhớ. Dược điển Anh và Mỹ đều đã có chuyên luận về rau đắng biển, trong đó mô tả chi tiết về hình thái, vi học và các tiêu chí về độ ẩm, độ tro, định tính, định lượng nhóm hoạt chất bacosid. Áp dụng phương pháp hình thái, vi học và các dữ liệu về hình thái, đặc điểm vi học bột dược liệu rau đắng biển (*Bacopa monnieri* L.) đã được mô tả. Dựa theo các tiêu chuẩn của Dược điển Mỹ về chuyên luận rau đắng biển, đã thực hiện xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho dược liệu rau đắng biển thu tại Việt Nam để làm cơ sở cho việc xác định tiêu chuẩn nguyên liệu sản xuất các sản phẩm cải thiện trí nhớ.

Từ khóa: Rau đắng biển, *Bacopa monnieri*, Bacosid, Cải thiện trí nhớ.

Summary

Botanical Characteristics and Standardization Development of *Bacopa monnieri* L. in Vietnam

Bacopa monnieri L. is used to treat a variety of diseases but is especially known for its memory-improving effects. Both British Pharmacopoeia and the American Pharmacopoeia have monographs on *Bacopa monnieri* L., which describe in detail the morphology, microscopic anatomy and criteria of moisture, ash, qualitative and quantitative analysis of group of active ingredients as "bacosides". Applying morphological and microscopic anatomy methods and the morphological and microscopic anatomy data, the powder of *Bacopa monnieri* L. has been described. Based on the standards of the American Pharmacopoeia on the monograph of *Bacopa monnieri* L., a basic standard has been developed for Vietnam's *Bacopa monnieri* L. to serve as a basis for determining the quality of raw materials to produce products such as memory improvement products.

Keywords: *Bacopa monnieri*, Bacosides, Memory-improving effects.

1. Đặt vấn đề

Cây rau đắng biển có tên khoa học là *Bacopa monnieri* (L.), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae), phân bố phổ biến ở một số nước nhiệt đới (Việt Nam, Lào, Campuchia, Thái Lan, Ấn Độ...) [1]. Tại Ấn Độ, rau đắng biển được biết đến từ hơn 3000 năm trước và được coi như một vị thánh (Brahma) trong việc kích thích bảo vệ trí nhớ và được sử dụng như một loại thuốc bổ thần kinh và tăng cường nhận thức [2]. Thành phần hóa học chính được biết đến nhiều nhất và liên quan trực tiếp đến tác dụng sinh học của rau đắng biển chính là saponin triterpenoid được gọi chung là “bacosid” [3]. Nghiên cứu cho thấy cao chiết rau đắng biển có tác dụng kích thích khả năng học tập trên mô hình đáp ứng lẫn tránh ở chuột cống trắng [4], tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ, chống lại sự thoái hóa các tế bào thần kinh gây ra bởi 6 - OHDA, có thể dùng để điều trị can thiệp chống lại căn bệnh Parkinson [5], bảo vệ các tế bào trong não, chống oxy hóa, chống rối loạn thần kinh như chứng mất ngủ, trầm cảm, rối loạn tâm thần, co giật, stress, ức chế enzym acetyl cholinesterase, kích hoạt cholin acetyltransferase và tăng lưu lượng máu não [6].

Dược điển Anh và Mỹ đã có chuyên luận cho dược liệu rau đắng biển, trong đó có tiêu chí đánh giá hàm lượng bacosid tổng (tính theo bacosid A3) [7],[8], Dược điển Việt Nam V hiện vẫn chưa có chuyên luận về dược liệu rau đắng biển. Theo nghiên cứu đánh giá chất lượng dược liệu rau đắng biển tại một số tỉnh ở Việt Nam của Hoàng Đức Mạnh và cs. [9], rau đắng biển cũng có các nhóm hoạt chất bacosid và hàm lượng bacosid tổng số đáp ứng theo quy định của Dược điển Mỹ. Tiếp theo các nghiên cứu đã thực hiện về rau đắng biển, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đặc điểm hình thái và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở dựa theo phương pháp của Dược điển Mỹ (USP40-NF35) [8].

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Đối tượng nghiên cứu là thân và lá các mẫu dược liệu rau đắng biển được thu hái ở một số tỉnh tại Việt Nam [9]. Mẫu nghiên cứu được giám định tên khoa học bởi ThS. Nguyễn Quỳnh Nga và ThS. Phan Văn Trường, Khoa Tài nguyên dược liệu, Viện Dược liệu. Mẫu tươi được sấy khô ở nhiệt độ 50°C.

TT	Ký hiệu	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Nơi lấy	Ngày lấy
1	RDB2	rau đắng biển	<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst	Tiền Hải, Thái Bình	07-07-2019
2	RDB3a	rau đắng biển	<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst	Giao Thủy, Nam Định	07-09-2019
3	RDB3b	rau đắng biển	<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst	Giao Thủy, Nam Định	07-09-2019
4	RDB4a	rau đắng biển	<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst	Thuận An, Huế	07-11-2019
5	RDB4b	rau đắng biển	<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst	Thuận An, Huế	07-11-2019

2.2. Dung môi hoá chất

- Các chất chuẩn bacosid I (CAS: 382148-47-2, LOT: PRF9012222), bacosid A3 (CAS: 157408-08-7, LOT: PRF9212143), bacosid II (CAS: 382146-66-9, LOT: PRF8062301), bacosid X (CAS: 94443-88-6, LOT: PRF9162411) và bacosaponin C (CAS: 178064-13-6, LOT: PRF8062302) được cung cấp bởi hãng Biopurify Phytochemicals Ltd. với độ tinh khiết trên 98%.

- Dung môi dùng cho phân tích: methanol (Merck), acetonitril (Merck), nước cất dùng cho phân tích, acid phosphoric (H_3PO_4) đặc ($d=1,685 g/cm^3$, Merck), KH_2PO_4

- Các dung môi, hóa chất dùng để xử lý mẫu: methanol, ethanol, *n*-butanol.... mua của Trung Quốc, đạt tiêu chuẩn phân tích (P.A), nước cất dùng cho HPLC.

- Bản mỏng: DC-Alufolien 60 GF254 (Merck)

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Shimadzu bao gồm: Hệ bơm binary LC-30AD, detector SPD-M20A DAD, hệ thống tiêm mẫu tự động SIL-30AC, bộ phận ổn nhiệt CTO-10AS của Shimadzu. Phần mềm điều khiển Labsolution. Cột sắc ký Zobax Eclip XDB C18 (250 x 4,6mm, 5µm) của Agilent.

- Bếp cách thủy (Memmert, WB - 14 LO).

- Cân phân tích (Precisa XT 220A), độ chính xác 0,00001 g.

- Cân kỹ thuật điện tử (Ohaus) độ chính xác 0,01 g

- Tủ sấy (Memmert, ULM 500).

- Cân xác định độ ẩm (Sartorius, MA - 45).

- Các dụng cụ thông thường ở phòng thí nghiệm.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho dược liệu rau đắng biển dựa theo một số tiêu chí đánh giá dược liệu rau đắng biển trong chuyên luận *Bacopa* (USP 40 - NF35) với các tiêu chí: Mô tả, bột, vi phẫu, độ ẩm, tạp chất, tro toàn phần, tro không tan trong acid, định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, chất chiết được và định lượng bacosid tổng số bằng phương pháp HPLC.

Mô tả: Dược liệu rau đắng biển được mô tả theo chuyên luận *Bacopa* (USP 40 - NF35)

Vi phẫu, soi bột: xác định bằng phương pháp hiển vi.

Độ ẩm: Độ ẩm của rau đắng biển được xác định theo phụ lục 9.6, Dược điển Việt Nam V. Mất khối lượng do làm khô. Trong USP 40 quy định, độ ẩm của rau đắng biển không quá 12,0%.

Tro toàn phần: Tiến hành theo phụ lục 9.8, Dược điển Việt Nam V.

Tro không tan trong acid: Tiến hành theo phụ lục 9.7, Dược điển Việt Nam V.

Tạp chất: Tiến hành xác định tạp chất theo phụ lục 12.11. Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu.

Định tính:

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (USP 40 - NF35).

Chuẩn bị mẫu:

- *Dung dịch chuẩn bacosid A3:* Sử dụng dung dịch chuẩn bacosid A3 nồng độ 0,5 mg/mL.

- *Dung dịch thử:* Sử dụng dung dịch thử trong phần chuẩn bị mẫu thử - định lượng bacosid tổng số

Điều kiện tiến hành sắc ký:

- Bản mỏng *silica gel* 60 F₂₅₄;
- Hệ dung môi khai triển: dicloromethan: methanol : nước (14:6:1, v/v/v);
- Thể tích chấm mẫu: 10 µL;
- Sau khi triển khai sắc ký khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Nhúng bản mỏng vào dung dịch thuốc thử chứa H₂SO₄ 10% trong ethanol. Sấy bản mỏng ở 105°C trong 5 phút. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường.

Chất chiết được: Tiến hành theo phụ lục 12.10, Dược điển Việt Nam V. Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh, sử dụng ethanol làm dung môi chiết.

Định lượng bacosid tổng số (tính theo bacosid A3):

- *Dung dịch chuẩn bacosid A3:* Cân chính xác khoảng 10,0 mg chất chuẩn bacosid A3 vào bình định mức 5 mL, thêm 3 mL methanol, lắc cho tan. Định mức đến vạch bằng methanol thu được dung dịch chuẩn ban đầu có nồng độ khoảng 2,0 mg/mL. Tiến hành pha loãng thành dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 và 2 mg/mL.

- *Các dung dịch chuẩn bacosid khác:* pha các dung dịch bacopasid I, bacopasid II, bacopasid X và bacopasaponin C có nồng độ khoảng 0,5mg/mL trong methanol, được sử dụng để xác định vị trí các pic tương ứng trên mẫu thử.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2,5 g dược liệu đã xay nhỏ vào bình cầu có dung tích 100 mL. Thêm chính xác 25 mL dung dịch methanol. Chiết hồi lưu cách thủy trong 10 phút. Để nguội về nhiệt độ phòng và gạn lấy lớp dịch. Tiếp tục chiết đến khi dịch chiết mất màu. Gộp các dịch chiết, cô dưới áp suất giảm và định mức đến 100 mL bằng methanol. Lọc dịch thử qua màng lọc cellulose acetat 0,45 µm thu được dịch sắc ký.

Tiến hành định lượng bacosid tổng số (tính theo bacosid A3) bao gồm bacopasid I, bacosid A3, bacopasid II, bacopasid X và bacopasaponin C bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với điều kiện sắc ký: Cột: Zobax Eclip XDB C18 (250 x 4,6mm, 5µm), pha động (Gradient): acetonitril (kênh B); đệm phosphat (từ KH₂ PO₄ khan và H₃PO₄, pH = 2,3 (kênh A), tốc độ dòng: 1,5 mL/phút, nhiệt độ cột: 27°C, thể tích tiêm mẫu: 20 µL, bước sóng phát hiện: 205 nm và được thực hiện theo mô tả tại tài liệu [8, 9].

Chương trình dung môi pha động:

Thời gian (phút)	% Kênh A	% Kênh B
0 - 25	70	30
25 - 28	70 - 10	30 - 90
28 - 33	10	90
33 - 38	10 - 70	90 - 30
38 - 43	70	30

Hàm lượng (%) bacosid tổng số có trong mẫu thử (tính theo khối lượng khô kiệt) được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{(S_t - b) \times V \times F \times 100 \times 100}{a \times m \times (100 - B)}$$

Trong đó:

Hệ số góc a: Hàm SLOPE; Hệ số chặn b

X(%): Hàm lượng của bacosid tổng số (tính theo bacosid A3)

S_t: Diện tích pic của mỗi triterpen glycosid trong dung dịch thử

V: Thể tích dung dịch thử (mL)

F: Là hệ số đáp ứng của mỗi triterpen glycosid so với bacosid A3: 1,00 đối với bacosid A3, 1,03 đối với bacosid I, 0,81 đối với bacosid II, 0,99 đối với bacosid X và 0,75 đối với bacosaponin C.

m: Khối lượng mẫu thử (mg)

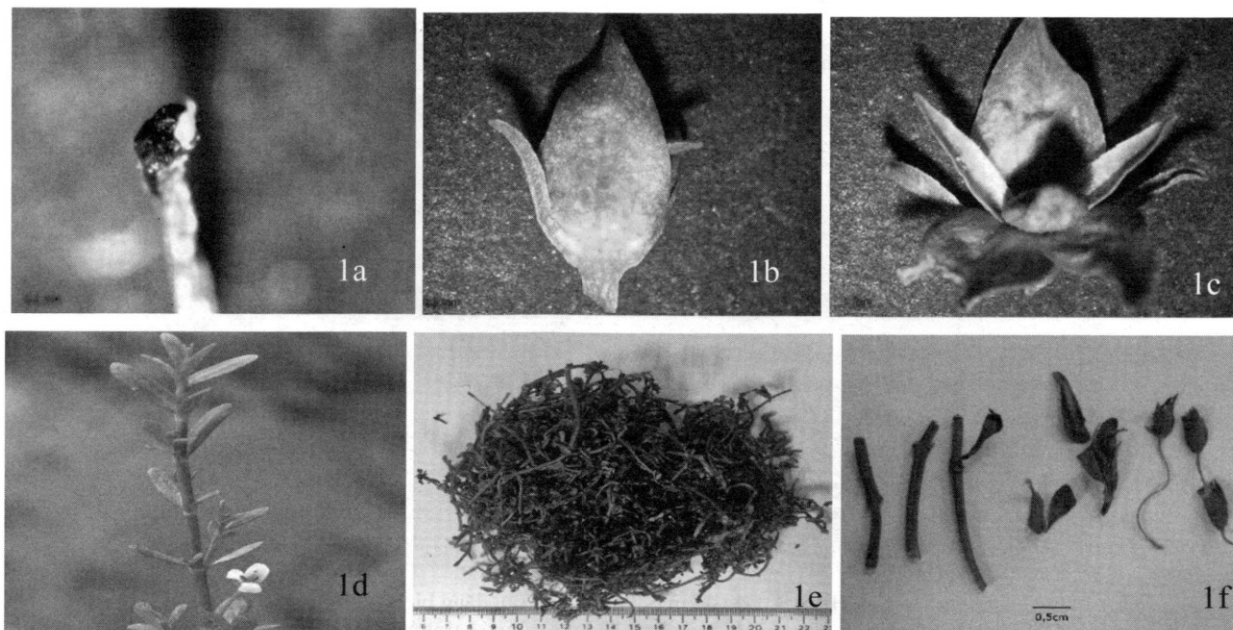
B: Độ ẩm của mẫu thử (%)

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Mô tả

Thân cỏ, mọc bò dài trên mặt đất, sống lâu năm. Thân nhẵn, màu xanh, thân non đôi khi có màu hơi nâu đỏ, tiết diện tròn, mọng nước, có rễ ở mấu, phân nhánh nhiều, mọc đứng. Lá đơn, mọc đối, không lông, dày, mọng nước, có dạng hình muống hay hình trứng ngược, tù ở đầu, dài 2 - 2,8 cm, rộng 0,5 - 0,7 cm, mép nguyên, không lông, ở 2 mặt lá có nhiều chấm lõm. Lá có màu xanh đậm ở mặt trên, xanh nhạt ở mặt dưới, 1 gân chính, gân phụ không rõ. Hoa đơn

độc, mọc ở nách lá, màu trắng hay màu tím nhạt. Hoa không đều, lưỡng tính mẫu 5. Cuống hoa dài 2,6 - 5,6 cm, không lông, hai lá bắc con hình dài. Bao hoa: 5 lá đài rời, không đều, lá đài sau to nhất, hình trứng, có 5 gân chính, 2 lá đài trước hình trứng, mũi nhọn, 3 gân chính, 2 lá đài bên nhỏ nhất, hình dài, 1 gân, có lông ở bìa. Lá đài 5, có màu xanh đậm ở mép, xanh nhạt ở bên trong và có chấm lõm ở 2 mặt, tiền khai năm điểm. Cánh hoa 5, có lông, mỗi cánh hoa có 3 gân, dính nhau bên dưới tạo thành ống, đáy ống màu tím nhạt hay màu trắng, tiền khai ngũ điểm hay kết lợp. Nhị 4, không đều, 2 nhị dài ở phía trước, 2 nhị ngắn ở phía sau. Nhị dính gần đáy ống tràng xen kẽ cánh hoa; chỉ nhị nhẵn, hình sợi. Bao phấn 2 ô, rời, xếp song song cạnh nhau, mở dọc, hướng trong, dính đáy. Hạt phấn rời, màu vàng nhạt, hình bầu dục hay hình tròn có 3 thùy, có rãnh. Lá noãn 2, vị trí trước sau, dính nhau thành bầu trên 2 ô, mỗi ô chứa nhiều noãn, dính noãn trung trụ. Vòi nhụy 1, ở đỉnh bầu, dạng sợi, nhẵn, dài 5 mm, đầu nhụy hình chén chia 2 thùy, màu xanh nhạt. Quả nang, hình trứng, có mũi, đựng trong đài nhẵn, vòi nhụy tồn tại. Hạt nhỏ, nhiều, hình tam giác, có cạnh.



Hình 1. Hình ảnh chụp minh họa phần trên mặt đất được liệu rau đắng biển

Bacopa monnieri (L.) Wettst. thu hái tại Quảng Thành, Thanh Hóa

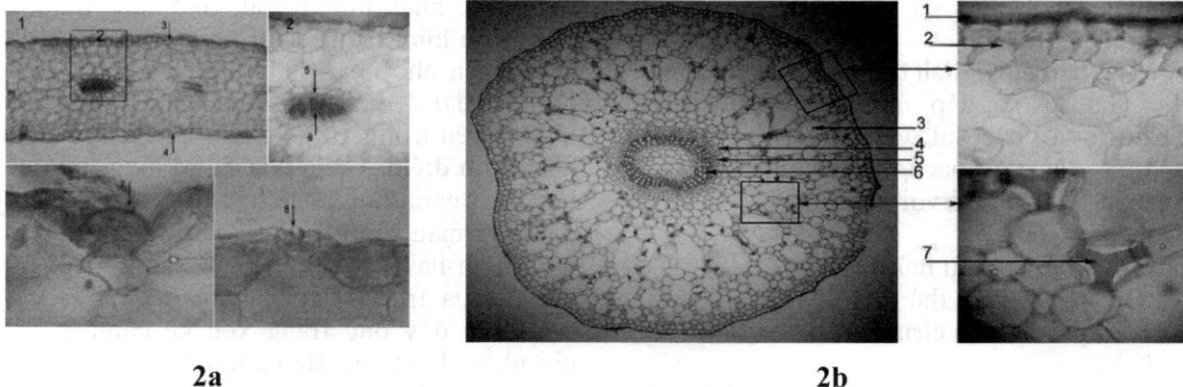
Ghi chú: 1a: vòi nhụy, 1b: bầu hoa, 1c: tràng, 1d: hình ảnh cây tươi, 1e, 1f: được liệu khô

3.2. Vi phẫu

Vi phẫu lá (Hình 2a): *Gân lá:* Gân giữa mặt dưới lồi nhiều, mặt trên hơi lồi. Mô mềm là những tế bào hình nhiều cạnh. *Phiến lá:* Biểu bì trên là những tế bào hình nhiều cạnh. Lông tiết ngắn, vách dày ở sát mép lá, không có lông che chở.

Vi phẫu thân (Hình 2b): Lớp bần mỏng cấu

tạo bởi những tế bào có màng mỏng. Vùng mô mềm vỏ rộng gấp 3 - 4 lần vùng mô mềm tủy. Các tế bào mô mềm có màng mỏng; ở phần ngoài tế bào mô mềm có hình tròn hay nhiều cạnh, xen kẽ gồm rất nhiều tế bào tiết. Tầng tầng là một hàng tế bào xếp đều đặn tạo thành một vòng tròn. Kế tiếp là lớp libe chạy liền mạch tạo thành vòng tròn bao quanh lớp tế bào gỗ và mô mềm tủy.



Hình 2. Vi phẫu lá và thân rau đắng biển

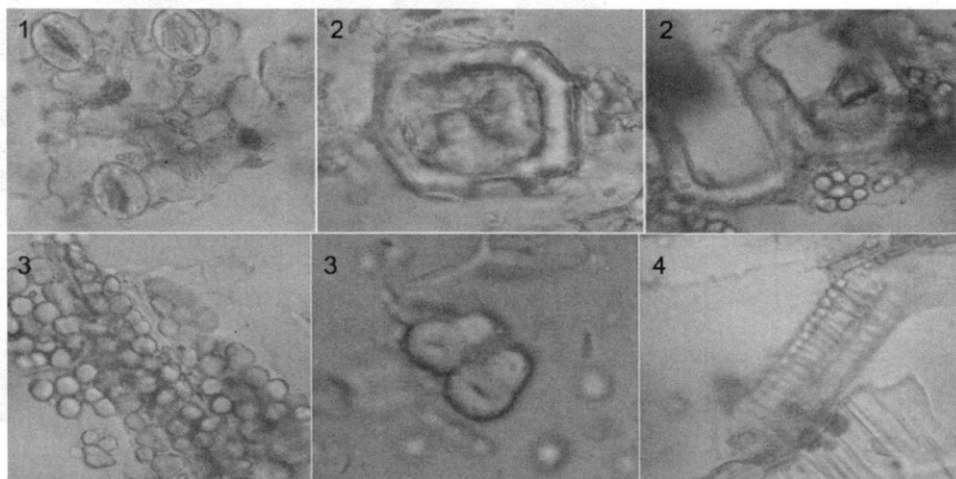
Ghi chú:

2a: 1, 2 - Một phần vi phẫu lá; 3-biểu bì trên; 4-biểu bì dưới; 5-libe; 6-gỗ; 7-lông tiết; 8-lỗ khí;
2b: 1-Biểu bì; 2- mô mềm vỏ; 3-khuết; 4-tầng sinh libe-gỗ; 5-libe; 6-gỗ; 7-vách tế bào hóa gỗ.

3.3. Soi bột

Bột màu xanh nâu, có mùi thơm, gồm: Tế bào mô cứng hình chữ nhật, riêng lẻ hay tập trung thành đám. Tế bào cương thể nằm bên trong tế bào mô mềm hay nằm ngoài tế bào mô mềm, vách mỏng. Mảnh biểu bì vách uốn lượn nhiều, mang lỗ khí kiểu hỗn bào hay lông tiết đa

bào. Mảnh tế bào mô mềm hình bầu dục hay hình chữ nhật dài. Hạt tinh bột nhiều, nhỏ, hình tròn, đường kính khoảng 5μm, vân không rõ. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn. Hạt phấn hình tròn hay hình bầu dục, có rãnh, đường kính khoảng 50 μm (**Hình 3**).

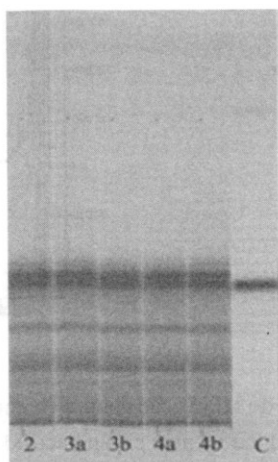


Hình 3. Đặc điểm bột dược liệu rau đắng biển

Ghi chú: 1- Mảnh biểu bì mang lỗ khí; 2- tế bào mô cứng; 3-tinh bột; 4- mảnh mạch vạch

3.4. Định tính

Tiến hành như mô tả ở mục 2.4, thu được kết quả như Hình 4.



Hình 4. Sắc ký đồ TLC định tính dược liệu rau đắng biển

Ghi chú: 2,3a,3b,4a,4b: Các mẫu dược liệu rau đắng biển; C: Chất chuẩn bacosid A3

Sắc ký đồ của các dung dịch mẫu thử có vết trùng về màu sắc và giá trị R_f với dung dịch chất chuẩn bacosid A3.

3.5. Độ ẩm, tro toàn phần, tro không tan trong acid, tạp chất, chất chiết được trong dược liệu

Tiến hành xác định độ ẩm, tro toàn phần, tro không tan trong acid, tạp chất, chất chiết được trong dược liệu theo phương pháp đã mô tả cho kết quả như sau ($TB \pm SD$, $n=3$):

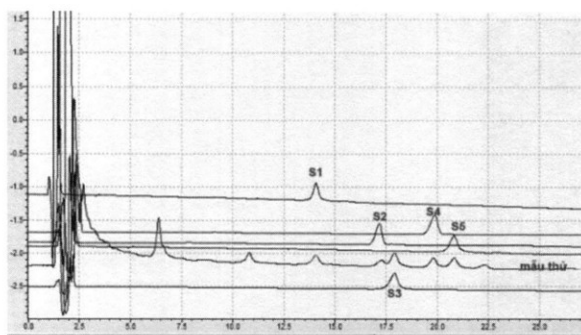
TT	Mẫu thử	Độ ẩm (%)	Tro toàn phần (%)	Tro không tan trong acid (%)	Tạp chất (%)	Hàm lượng chất chiết được (%)
1	2	$10,98 \pm 0,04$	$11,58 \pm 0,01$	$4,99 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,02$	$9,3 \pm 0,2$
2	3a	$11,69 \pm 0,07$	$12,97 \pm 0,02$	$5,19 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,02$	$9,5 \pm 0,1$
3	3b	$11,77 \pm 0,07$	$12,71 \pm 0,02$	$5,18 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,01$	$9,7 \pm 0,2$
4	4a	$9,88 \pm 0,06$	$12,15 \pm 0,04$	$3,91 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,01$	$9,9 \pm 0,1$
5	4b	$9,11 \pm 0,05$	$12,12 \pm 0,03$	$3,93 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,03$	$9,7 \pm 0,3$
Quy định trong USP 40 [8]		$\leq 12,0\%$	$\leq 18,0\%$	$\leq 6,0\%$	$\leq 1,0\%$	$\geq 6\%$
TCCS đề xuất		$\leq 12,0\%$	$\leq 18,0\%$	$\leq 6,0\%$	$\leq 1,0\%$	$\geq 6\%$

Với kết quả thu được về đánh giá theo các tiêu chí độ ẩm, tro toàn phần, tro không tan trong acid, tạp chất, chất chiết được của dược liệu rau đắng biển của một số mẫu thu hái tại các vùng khác nhau của Việt Nam cho thấy đều đáp ứng theo quy định của Dược điển Mỹ [8], do vậy nhóm nghiên cứu đề xuất tiêu chuẩn cơ sở cho dược liệu rau đắng biển Việt Nam tương tự như Dược điển Mỹ đã quy định.

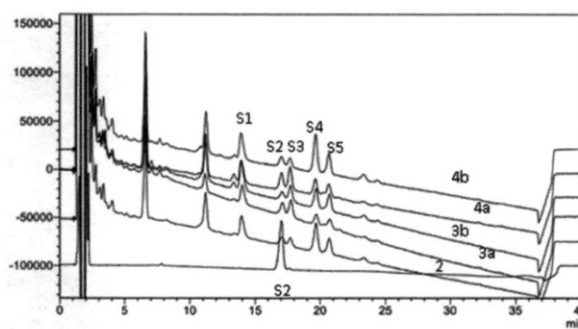
3.6. Định lượng bacosid tổng số

Phương pháp định lượng bacosid tổng số đã được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn AOAC [10] và được Hoàng Đức Mạnh và cs. công bố trong tài liệu [9], đã đánh giá tính thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính $0,21\text{mg/mL}$ đến $1,68\text{mg/mL}$, độ lặp lại ($RSD = 1,44\%$), độ thu hồi ($99,4\%$). Áp dụng phương pháp này thu được kết quả hàm lượng bacosid tổng số ở 1 số mẫu dược liệu như sau:

TT	Mẫu thử	Nơi lấy	Ngày lấy	Hàm lượng (%) bacosid tổng số (tính theo bacosid A3)	Quy định trong USP 40 [8]
1	2	Tiền Hải, Thái Bình	07-07-2019	$3,25 \pm 0,01$	Không thấp hơn 2,5%
2	3a	Giao Thủy, Nam Định	07-09-2019	$2,53 \pm 0,01$	
3	3b	Giao Thủy, Nam Định	07-09-2019	$3,04 \pm 0,03$	
4	4a	Thuận An, Huế	07-11-2019	$3,18 \pm 0,02$	
5	4b	Thuận An, Huế	07-11-2019	$3,45 \pm 0,04$	



Hình 5a



Hình 5b

Hình 5a. Sắc ký đồ HPLC các dung dịch chuẩn và mẫu thử

Hình 5b. Sắc ký đồ HPLC các mẫu thử và mẫu chuẩn bacosid A3

Ghi chú: 2,3a,3b,4a,4b: Các mẫu dược liệu rau đắng biển; S1, S2, S3, S4, S5 lần lượt là các pic bacopasid I, bacosid A3, bacopasid II, bacopasid X và bacopasaponin C.

Kết quả đánh giá các mẫu của bảng trên cho thấy hàm lượng bacosid tổng số (tính theo bacosid A3) trong các mẫu dược liệu Rau đắng biển nằm trong khoảng từ 2,53 - 3,45%. Kết quả trên cho thấy hàm lượng bacosid tổng số của các mẫu dược liệu thu hái tại Việt Nam đều không thấp hơn 2,5% so với mức được quy định trong chuyên luận rau đắng biển của Dược điển Mỹ [8], do vậy, chỉ tiêu về định lượng hàm lượng bacosid tổng tính theo bacosid A3 được đề xuất trong dược liệu rau đắng biển Việt Nam là không thấp hơn 2,5%.

4. Kết luận

Qua nghiên cứu chúng tôi thu được những kết quả sau: i) Đã mô tả được về hình thái và vi học của loài rau đắng biển thu hái tại Việt Nam có tên khoa học *Bacopa monniera* (L.) Wettst thuộc họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae). ii) Đã xây

dựng được tiêu chuẩn cơ sở cho dược liệu rau đắng biển Việt Nam có bổ sung thêm tiêu chí soi bột so với Dược điển Mỹ.

Những kết quả thu được là những dẫn liệu bổ sung cho các mô tả trong nước về hình thái và thành phần hoạt chất chính của loài rau đắng biển (*Bacopa monniera* (L.) Wettst), đồng thời khẳng định về chất lượng của rau đắng biển tại Việt Nam tương đương với chất lượng của dược liệu rau đắng biển đã được mô tả trong Dược điển Mỹ (hàm lượng bacosid tổng không thấp hơn 2,5% theo dược liệu khô kiệt), từ đó làm căn cứ để bổ sung chuyên luận dược liệu rau đắng biển cho Dược điển Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện thông qua sự hỗ trợ từ Chương trình phát triển tài sản trí tuệ, mã số SHTT.TW.19-2018.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Tiến Bân (chủ biên), (2003&2006), Danh lục các loài thực vật Việt Nam, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Hà Nội, Tập 2, 3.
2. Aguiar S., Borowski T. (2013), Neuropharmacological review of the nootropic herb *Bacopa monnieri*, *Rejuvenation research*, 16(4), 313-326.
3. Mathur, D., et al., (2016) The molecular links of re-emerging therapy: A review of evidence of Brahmi (*Bacopa monniera*). *Frontiers in pharmacology*, 7, 44-49.
4. Singh H. K., Dhawan B. N. (1982), Effect of *Bacopa monniera* Linn. (brahmi) extract on avoidance responses in rat, *Journal of Ethnopharmacology*, 5(2), 205-214.
5. Phrompittayarat W. Wittaya-Areekul S., Jetiyanon K., Putalun W., Tanaka H., Ingkaninan K. (2008), Stability studies of saponins in *Bacopa monnieri* dried ethanolic extracts, *Planta Medica*, 74(14), 1756.
6. Aguiar S. Borowski T., (2013), Neuropharmacological review of the nootropic herb *Bacopa monnieri*, *Rejuvenation Research*, 16(4), 313-326.
7. The British Pharmacopoeia Commission Secretariat of the Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA) (2016), *British Pharmacopoeia*, The Stationery Office, tập IV, 88-89.
8. The United States Pharmacopeial Convention (2018), *The United State Pharmacopeia 40 NF 35 Second Supplement*, Rockville, Maryland: United States Pharmacopeial Convention, 6821.
9. Hoàng Đức Mạnh, Đào Anh Hoàng, Phan Văn Trường, Nguyễn Thị Phương, Trần Minh Ngọc, Nguyễn Minh Khởi (2021) Đánh giá hàm lượng bacoside tổng trong dược liệu rau đắng biển bằng phương pháp HPLC-DAD. *Tạp chí Y Dược học*. 34, 56-61.
10. AOAC International (2012), *AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals*.