

Xây dựng quy trình định lượng đồng thời vitexin và isovitexin trong chế phẩm cao lọc tiên bằng HPLC

Đặng Trần Minh Xuân¹, Trần Hữu Dũng¹, Nguyễn Hữu Tiến^{1*}
(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Chất lượng, thành phần của chế phẩm cao lọc tiên trên thị trường hiện chưa được kiểm soát tốt. Vitexin và isovitexin được xem là các chất đánh dấu trong lạc tiên và các sản phẩm của nó. **Mục tiêu:** Xây dựng phương pháp định lượng vitexin và isovitexin trong cao lọc tiên bằng HPLC; từ đó ứng dụng xác định hàm lượng các chất này trong một số sản phẩm cao lọc tiên trên thị trường. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Phương pháp HPLC được xây dựng, thẩm định và ứng dụng trên đối tượng cao lọc tiên. **Kết quả:** các flavon được chiết siêu âm bằng EtOH 90% trong 30 phút ở 50 °C. Điều kiện sắc ký: Cột InertSustain™ C18 (4,6 x 250 mm; 5 µm); pha động: ACN – MeOH – acid acetic 2% rửa giải theo gradient; detector PDA (337 nm). Phương pháp được thẩm định theo AOAC và áp dụng để định lượng vitexin và isovitexin trong cao lọc tiên. **Kết luận:** Phương pháp đã xây dựng có thể ứng dụng để định lượng vitexin và isovitexin trong cao lọc tiên.

Từ khóa: Vitexin, isovitexin, cao lọc tiên, HPLC.

Determination of vitexin and isovitexin in *Passiflora foetida* extract by HPLC

Dang Tran Minh Xuan¹, Tran Huu Dung¹, Nguyen Huu Tien^{1*}
(1) Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Abstract

Background: *Passiflora foetida* extract is widely available on the market, but its quality and ingredients are poorly controlled. Vitexin and isovitexin can be considered as two markers of *Passiflora foetida* and its products. **Objectives:** To develop and validate an HPLC method for quantifying vitexin and isovitexin in *Passiflora foetida* extracts and apply it to some commercially available extracts. **Materials and methods:** After being optimized, the method was validated and applied to evaluate the amounts of vitexin and isovitexin in some extraction products from *Passiflora foetida*. **Results:** Flavonoids from *Passiflora foetida* extracts were extracted with 90% MeOH by sonication for 30 minutes at 50 °C. The analysis was performed on InertSustain™ C18 column (250 × 4.6 mm, 5 µm), with a mobile phase consisting of ACN – MeOH – 2% acetic acid in gradient mode of elution. The detector was performed at 337 nm. The method was validated according to the AOAC guideline. The developed HPLC method can be applied to estimate vitexin and isovitexin content in some extraction products from *Passiflora foetida*. **Conclusion:** The developed HPLC method can determine vitexin and isovitexin content in some *Passiflora foetida* extracts.

Key words: Vitexin, isovitexin, *Passiflora foetida* extract, HPLC.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lạc tiên (*Passiflora foetida* L.), họ Lạc tiên (Nhãn lồng) Passifloraceae còn được biết đến với tên gọi khác như dây chùm bao, dây nhãn lồng. Tác dụng chính của lạc tiên là an thần, thanh nhiệt, giải độc, trừ phong thấp, chống viêm, dùng chữa các bệnh mất ngủ, tim hồi hộp, xương khớp, mụn nhọt, lở ngứa, viêm loét chân, phù thũng [1], [2]. Thành phần hóa học chính của lạc tiên gồm alkaloid, glycosyl

flavonoid và các hợp chất cyanogenic [2], [3]. Để thuận tiện trong sử dụng dược liệu Lạc tiên, trên thị trường xuất hiện nhiều sản phẩm bào chế dạng cao đặc được ghi nhãn chiết xuất 100% từ lạc tiên của các cơ sở kinh doanh nhỏ. Chất lượng, thành phần của các chế phẩm này hiện chưa được kiểm soát tốt, gây ra những tác hại hoặc đem lại hiệu quả thấp cho người sử dụng.

Dược điển Việt Nam V có chuyên luận về dược

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hữu Tiến, email: nhtien@huemed-univ.edu.vn
Ngày nhận bài: 21/02/2024; Ngày đồng ý đăng: 15/05/2024; Ngày xuất bản: 10/6/2024

liệu lạc tiên, trong đó hàm lượng tổng flavonoid tính theo vitexin được định lượng bằng phương pháp đo quang. Ở Việt Nam, đã có một số công bố về phương pháp định lượng vitexin bằng HPLC trên một số đối tượng như viên nang lạc tiên hoặc một số dược liệu khác chứa vitexin như vỏ đậu xanh, rau đắng đất [4], [5]. Trên thế giới, một số công bố định lượng vitexin hoặc cả vitexin và isovitexin bằng HPLC, CE, HPTLC, UHPLC [6], [7], [8], [9], [10], [11]. Đối tượng nghiên cứu của các công bố này đều là dược liệu lạc tiên hoặc viên nang. Tuy nhiên, chưa có công bố về phương pháp định lượng đồng thời vitexin và isovitexin trong các chế phẩm cao lạc tiên. Do đó nghiên cứu này xây dựng một phương pháp có thể định lượng hai flavon trong chính trong các chế phẩm cao lạc tiên là vitexin và isovitexin, góp phần kiểm soát chất lượng của các chế phẩm ở dạng bào chế này trên thị trường.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Một số sản phẩm cao lạc tiên được mua từ các cơ sở sản xuất, ký hiệu mẫu M1, M2, M3, M4.

2.1. Hóa chất, thiết bị

Chất đối chiếu: Vitexin hàm lượng 98% (số lô PRF10102941), isovitexin hàm lượng 98%, (số lô PRF20111321) cung cấp bởi Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd. (Trung Quốc); MeOH, ACN, trifluoroacetic acid (TFA), acid formic, acid acetic (HPLC grade), nước cất 2 lần và các dung môi hữu cơ đạt tinh khiết kỹ thuật khác.

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao SHIMADZU SPD-M20A detector PDA, Nhật; bể siêu âm Elmasonic S100H (Đức); máy ly tâm lạnh Hermle Z326K (Đức); cân phân tích Sartorius Quintix125D-1S (Đức); micropipet 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L Labnet (Mỹ) và các dụng cụ thủy tinh chính xác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn gốc đơn vitexin và isovitexin có nồng độ 2000 μ g/mL trong MeOH. Các dung dịch này được pha loãng với MeOH để thu được các dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ khác nhau.

Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác 2 g cao cho vào ống falcon. Thêm vào trong ống 10 mL dung môi, lắc xoáy hỗn hợp trong 10 phút và siêu âm. Lọc thu lấy dịch chiết bằng giấy lọc, sau đó lọc dịch thu được qua màng lọc 0,45 μ m trước khi tiêm vào hệ thống HPLC. Khảo sát dung môi chiết (các tỷ lệ khác nhau của MeOH – nước, EtOH – nước); thời gian chiết; nhiệt độ chiết. Biến đầu ra được lựa chọn là tổng diện tích hai pic vitexin và isovitexin. Mỗi điều kiện

được chiết lặp lại 03 lần để lấy giá trị trung bình.

Khảo sát điều kiện HPLC: Dựa theo các tài liệu tham khảo [4], [5], [6], [8], [11], nghiên cứu cố định các điều kiện sắc ký gồm: thể tích tiêm 15 μ L, tốc độ dòng: 1 mL/phút, detector: PDA – 337 nm. Khảo sát các điều kiện cột sắc ký: cột Agilent Eclipse C18 (4,6 x 150 mm; 5 μ m) và cột InertSustainTM C18 (4,6 x 250 mm; 5 μ m); thành phần, tỷ lệ và chương trình dung môi pha động: ACN – nước; ACN - đệm phosphat pH 2,5; MeOH – đệm phosphat pH 2,5; ACN – acid formic 0,1%; ACN – acid acetic 2%.

Thẩm định phương pháp phân tích theo AOAC về thẩm định quy trình phân tích gồm các tiêu chí: Tính tương thích hệ thống, tính chọn lọc, khoảng nồng độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) [12].

Các số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê trên phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. KẾT QUẢ

3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

Kết quả khảo sát trên hai cột sắc ký Agilent Eclipse C18 (4,6 x 150 mm; 5 μ m) và cột InertSustainTM C18 (4,6 x 250 mm; 5 μ m) cho thấy khả năng tách vitexin và isovitexin trên cột 250 mm tốt hơn, thể hiện qua độ phân giải 2 pic. Nghiên cứu đã khảo sát nhiều hệ pha động với các chế độ đẳng dòng ở các tỷ lệ khác nhau và chế độ chương trình hóa dung môi. Kết quả cho thấy các hệ dung môi ACN – nước, ACN – đệm phosphat pH 2,5, MeOH – đệm phosphat pH 2,5, ACN – acid formic 0,1% ở các tỷ lệ khác nhau đều cho kết quả phân tách chất không tốt, hoặc thời gian rửa giải kéo dài. Trong khi đó với hệ dung môi ACN – acid acetic 2%, các pic vitexin và isovitexin phân tách tốt và tách khỏi các tạp trong mẫu thử. Khảo sát hệ dung môi này ở các chế độ gradient khác nhau nhằm giảm thời gian phân tích, đồng thời đảm bảo các thông số sắc ký phù hợp.

Điều kiện sắc ký sau khi được tối ưu như sau:

- Cột InertSustainTM C18 (4,6 x 250 mm; 5 μ m).
- Detector PDA, bước sóng phát hiện: 337 nm.
- Pha động: ACN (A) - MeOH (B) - Dung dịch acid acetic 2% (C). Chương trình rửa giải gradient: 16,8% A: 2% B : 81,2% C (0 - 6 phút), 21% A: 2% B : 77% C (20 phút), 16,8% A: 2% B : 81,2% C (21 - 30 phút).
- Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút.
- Thể tích tiêm: 15 μ L.

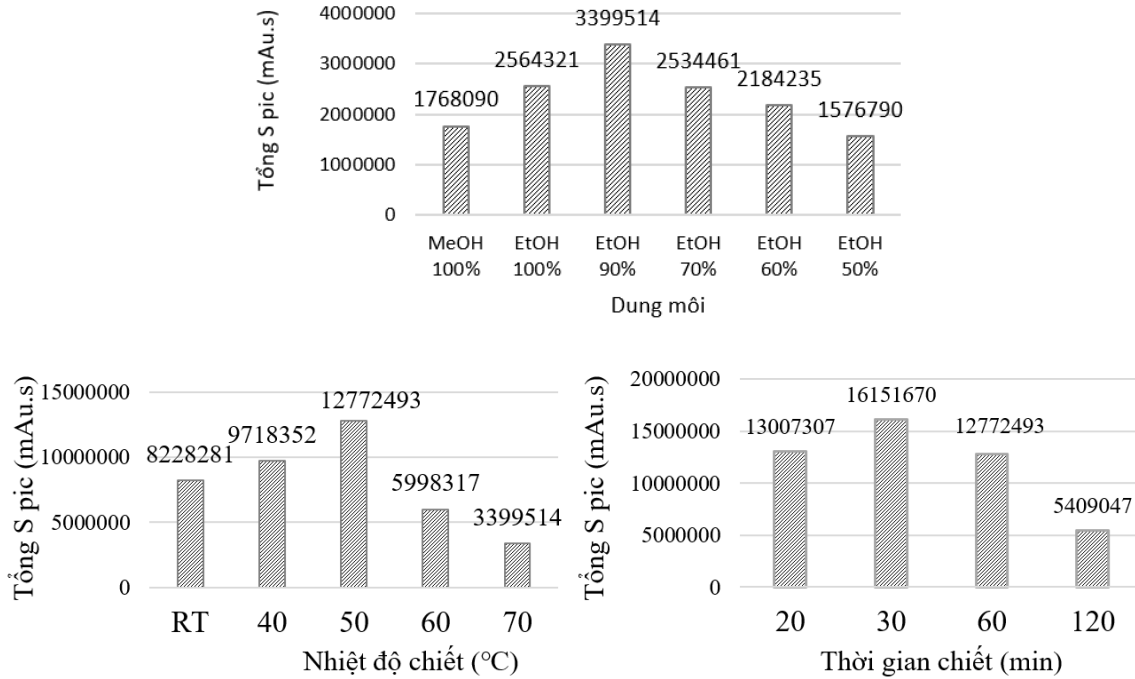
3.2. Quy trình xử lý mẫu

Kết quả khảo sát dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết hai hoạt chất vitexin và isovitexin trong cao lạc tiên được thể hiện ở Hình 1. Khảo sát dung môi chiết cho thấy EtOH 90% cho hiệu suất chiết hai flavon

cao nhất, tốt hơn dung môi MeOH và các tỷ lệ khác nhau của hỗn hợp cồn – nước. Sử dụng dung môi này để khảo sát nhiệt độ chiết siêu âm cho thấy 50°C là nhiệt độ chiết tốt nhất, tương tự, thời gian chiết tối ưu là 30 phút.

Như vậy, quy trình chiết cao lọc tiên được tối ưu

như sau: cân chính xác 2 g cao cho vào ống falcon. Thêm vào trong ống 10 mL dung môi EtOH 90%, lắc xoáy hỗn hợp trong 10 phút và siêu âm trong 30 phút ở nhiệt độ 50°C. Lọc thu lấy dịch chiết bằng giấy lọc, sau đó lọc dịch thu được qua màng lọc 0,45 µm trước khi tiêm vào hệ thống HPLC.



Hình 1. Khảo sát các điều kiện chiết vitexin và isovitexin từ cao lọc tiên: dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết

3.3. Thẩm định quy trình

Tính phù hợp hệ thống

Tính phù hợp hệ thống được xác định bằng cách tiến hành tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn hỗn hợp vitexin 100 µg/mL và isovitexin 50 µg/mL. Kết quả trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Khảo sát tính phù hợp hệ thống sắc ký (n = 6)

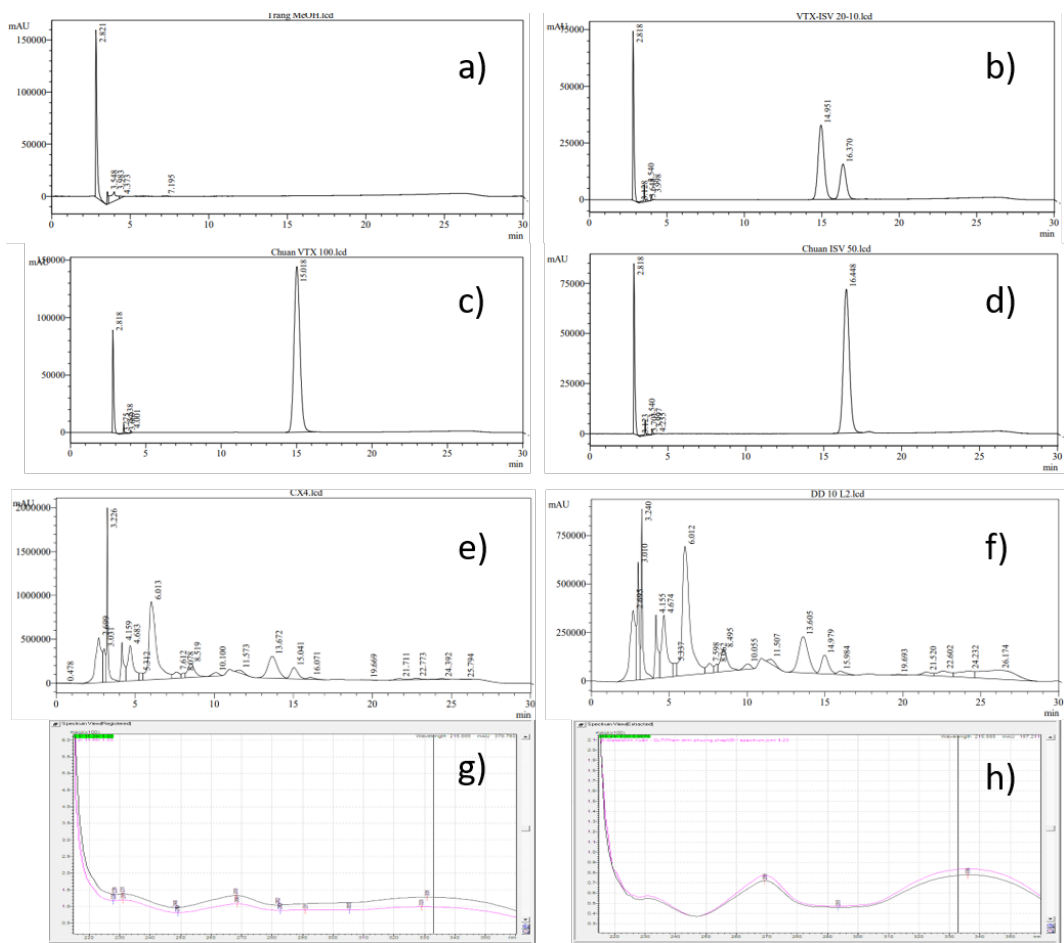
		t_r (phút)	S (mAU.s)	N	T_f	R_s
Vitexin	Trung bình	15,004	4406766	7076	1,13	-
	RSD%	0,19	0,38			
Isovitexin	Trung bình	16,435	2092266	8446	1,102	2,00
	RSD%	0,17	0,50			

Ghi chú : t_r : thời gian lưu; S: diện tích pic; N: số đĩa lý thuyết; T_f : hệ số kéo đuôi; R_s : Độ phân giải

RSD của các thông số thời gian lưu, diện tích pic đều nhỏ hơn 2%, số đĩa lý thuyết ($N \geq 2000$), hệ số bất đối ($0,8 \leq T_f \leq 1,2$) và hệ số phân giải thể hiện khả năng tách 2 pic kế cạnh ($R_s \geq 1,5$) cho thấy hệ thống sắc ký chọn lựa là tương thích cho việc phân tích định lượng 2 hợp chất flavon.

Tính đặc hiệu

Tiến hành sắc ký các dung dịch mẫu trắng, mẫu chuẩn hỗn hợp, chuẩn vitexin, chuẩn isovitexin, mẫu cao M1 và mẫu cao M1 thêm chuẩn. Các sắc ký đồ và kết quả chồng phổ UV- Vis của vitexin, isovitexin trong mẫu chuẩn và mẫu cao được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Các sắc ký đồ (a): mẫu trắng; (b): mẫu chuẩn hỗn hợp; (c): mẫu chuẩn vitexin; (d): mẫu chuẩn isovitexin; (e): mẫu cao M1; (e): mẫu cao M1 thêm chuẩn; kết quả chồng phổ UV – Vis: (g) pic vitexin và (h): pic isovitexin

Trên sắc ký đồ mẫu trắng tại thời điểm tương ứng thời gian lưu của pic vitexin và isovitexin không xuất hiện tín hiệu lạ; các phổ UV-Vis của pic vitexin và isovitexin trong mẫu chuẩn và thử cho thấy sự tương đồng; bên cạnh đó, kiểm tra độ tinh khiết pic vitexin và isovitexin trên sắc ký đồ mẫu cao đều cho giá trị purity index xấp xỉ 1,000, cho thấy quy trình phân

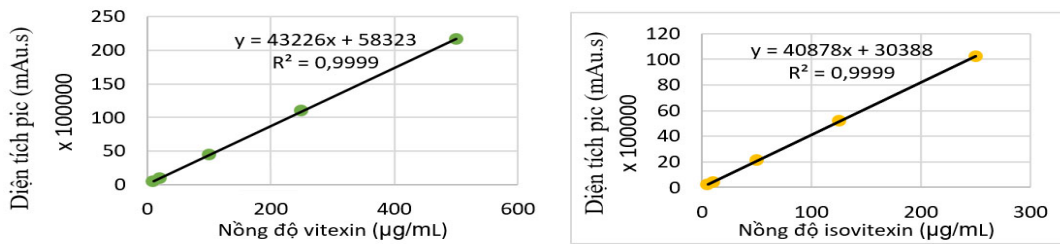
tích có tính đặc hiệu cao.

Khoảng nồng độ tuyến tính

Chuẩn bị một dãy dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ vitexin từ 10 - 500 µg/mL và isovitexin từ 5 - 250 µg/mL. Tiến hành sắc ký theo các điều kiện đã chọn. Đánh giá mối tương quan giữa nồng độ và diện tích pic qua *bảng 2* và *hình 3*.

Bảng 2. Tương quan giữa nồng độ hoạt chất và diện tích pic

	C (µg/mL)	10	20	100	250	500
Vitexin	S (mAU.s)	445632	891178	4413150	10961947	21618183
	Đường chuẩn	$y = 43226x + 58323$ $R^2 = 0,9999$				
	Số liệu thống kê	$F = 57747,8; t_a = 240,308; t_b = 1,276$				
Isovitexin	C (µg/mL)	5	10	50	125	250
	S (mAU.s)	210236	419730	2091557	5198019	10218883
	Đường chuẩn	$y = 40878x + 30388$ $R^2 = 0,9999$				
	Số liệu thống kê	$F = 37693,5; t_a = 194,148; t_b = 1,136$				



Hình 3. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa diện tích pic và nồng độ vitexin và isovitexin.

Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ khảo sát của vitexin và isovitexin có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ. Sự phụ thuộc này khá chặt chẽ thể hiện qua bình phương hệ số tương quan $R_2 = 0,9999$.

Độ chính xác

Thẩm định độ chính xác trên mẫu cao M1. Kết quả trình bày ở *Bảng 3*.

Bảng 3. Kết quả khảo sát độ chính xác trên dược liệu và cao M1 (n = 6)

	Vitexin		Isovitexin	
	% HL± SD, %	RSD, %	% HL± SD, %	RSD, %
Độ lặp lại	0,0457 ± 0,0013	2,88	0,0197 ± 0,0006	2,86
Độ chính xác trung gian	0,0474 ± 0,0010	2,13	0,0192 ± 0,0005	2,86

Ghi chú: SD: Độ lệch chuẩn, RSD: Độ lệch chuẩn tương đối

Kết quả đánh giá độ chính xác cho thấy giá trị RSD đều nhỏ hơn 3% đối với cả hai hoạt chất, do đó quy trình đạt yêu cầu về độ chính xác theo AOAC đối với các mẫu phân tích có hàm lượng dưới 0,1%.

Độ đúng

Độ đúng được xác định bằng kỹ thuật thêm chuẩn, lượng chuẩn thêm vào bằng 10%, 20%, 100% lượng dược chất có trong 5 g mẫu cao lạc tiên. Xử lý mẫu và tiến hành sắc ký mẫu thử không thêm chuẩn và mẫu thử có thêm chuẩn, mỗi mẫu thực hiện 3 lần. Tính tỷ lệ thu hồi (%), kết quả được trình bày trong *Bảng 4*.

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ đúng trên mẫu cao (n = 3)

Mức thêm chuẩn	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%)	
	Vitexin	Isovitexin
10%	103,54	100,99
20%	98,52	102,59
100%	103,88	96,49

Độ đúng đạt yêu cầu cho một quy trình định lượng với hàm lượng hoạt chất trong cao ≤ 0,1% với tỷ lệ thu hồi trung bình cho phép là 90 - 108%.

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

Giá trị LOD, LOQ được xác định bằng tỷ số tín hiệu/nhiều nền (S/N), LOD là nồng độ mà tại đó S/N = 3; LOQ là nồng độ mà tại đó S/N = 10. Kết quả thu được giá trị LOD của vitexin và isovitexin lần lượt là 0,5 và 0,25 µg/mL, giá trị LOQ của vitexin và isovitexin lần lượt là 1,5 và 0,75 µg/mL.

Ứng dụng phương pháp

Ứng dụng quy trình đã thẩm định để xác định hàm lượng vitexin và isovitexin trong một số chế phẩm cao lạc tiên trên thị trường (*Bảng 5*). Tiến hành xử lý mẫu, lặp lại 3 lần và lấy kết quả trung bình.

Bảng 5. Kết quả khảo sát hàm lượng vitexin và isovitexin trong cao Lạc tiên (n = 3)

STT	Đối tượng	Hàm lượng vitexin (mg/g)	Hàm lượng isovitexin (mg/g)
1	Cao M1	0,4566	0,1973
2	Cao M2	0,0014	0,0070
3	Cao M3	-	-
4	Cao M4	0,0064	0,0003

Ghi chú: (-) Dưới LOD của phương pháp

Kết quả trên cho thấy có sự khác biệt khá lớn hàm lượng vitexin và isovitexin trong cao lạc tiên giữa các cơ sở sản xuất. Hàm lượng hai flavon trong chế phẩm cao M1 cao nhất, các chế phẩm M2 và M4 có hàm lượng thấp, trong khi chế phẩm cao M3 có hàm lượng flavon thấp dưới giá trị LOD của phương pháp.

4. BÀN LUẬN

Quy trình xử lý mẫu

Xử lý mẫu nhằm tách lấy hoạt chất cần định lượng và loại bỏ tạp từ dược liệu. Trong nghiên cứu này, phương pháp được chọn lựa là chiết siêu âm vì đây là phương pháp phổ biến, đơn giản, dễ thực hiện, sóng siêu âm tăng cường xáo trộn dược liệu, tăng diện tích tiếp xúc giữa dung môi và dược liệu, phá vỡ màng tế bào giúp dung môi dễ dàng hòa tan hoạt chất nên rút ngắn thời gian chiết.

Nghiên cứu đã khảo sát điều kiện chiết tối ưu hai flavon trong cao lạc tiên với các yếu tố dung môi chiết; thời gian chiết; nhiệt độ chiết. Các dung môi được khảo sát là dung môi thông dụng (các tỷ lệ khác nhau của MeOH – nước, EtOH – nước), đều là các dung môi có độ phân cực, thường sử dụng để chiết dược liệu. Do các sản phẩm cao lạc tiên thường được sản xuất bằng phương pháp chiết nước hoặc hỗn hợp cồn – nước nên phần lớn hợp chất chiết được trong cao là hợp chất phân cực, nên dung môi trên được lựa chọn để khảo sát. Kết quả cho thấy EtOH 90% cho hiệu suất chiết cao nhất. MeOH được xem là dung môi vạn năng nhưng khả năng chiết hai flavon ra khỏi cao không tốt bằng EtOH 90%, đồng thời các tỷ lệ khác của cồn - nước cho khả năng chiết kém hơn EtOH 90%. Kết quả này khá tương đồng với một số nghiên cứu cũng sử dụng các hệ nước – alcol khác nhau để chiết flavonoid ra khỏi một số loài thuộc chi *Passiflora* [4], [5]. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu trên, đối tượng phân tích là dược liệu lạc tiên, hoặc chế phẩm viên nang cứng chứa hỗn hợp cao khô dược liệu, do đó thành phần trong cao đặc lạc tiên ở nghiên cứu này có độ phân cực khác, dẫn đến khả năng hòa tan của cao trong các dung môi có hàm lượng nước cao trên 30% (EtOH 70%, EtOH 60%) thấp hơn hơn so với dung môi chứa phần lớn là ancol. Thời gian chiết và nhiệt độ chiết cũng được khảo sát để xác định các thông số tối ưu của quá trình chiết, đảm bảo chiết được tối đa lượng vitexin và isovitexin trong cao.

Quy trình phân tích HPLC

Nghiên cứu đã đưa ra được quy trình sắc ký tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm, cho hình dáng pic vitexin và isovitexin sắc nhọn, cân đối, hệ dung môi gradient được thiết kế nhằm tách được hai pic

vitexin và isovitexin ra khỏi nhau và khỏi các thành phần khác trong cao. Do cấu trúc hóa học của hai flavon này gần giống nhau và tương tự các flavonoid khác trong cao lạc tiên nên đặc tính lý hóa các hợp chất này khá giống nhau, dẫn đến việc khó khăn trong tách các hợp chất trên. Do đó, nghiên cứu đã khảo sát nhiều hệ dung môi với các thành phần, tỷ lệ khác nhau để lựa chọn điều kiện sắc ký có thể tách được các chất. Chế độ rửa giải đẳng dòng và gradient cũng được khảo sát để vừa tách được các chất, đồng thời rửa giải hết các pic tạp và rút ngắn thời gian phân tích. Tổng thời gian phân tích một mẫu là 30 phút, đảm bảo pic hoạt chất được tách hoàn toàn, các tạp chất rửa giải hết ra khỏi cột, hạn chế tích tụ gây bẩn cột và đảm bảo áp suất hệ thống ổn định.

Khả năng ứng dụng của phương pháp

Hiện nay, người tiêu dùng có thể dễ dàng mua được các sản phẩm được dán nhãn cao lạc tiên trên các trang thương mại điện tử hoặc cơ sở kinh doanh sản phẩm dược liệu. Phần lớn sản phẩm này được bào chế thủ công, các cơ sở sản xuất nấu cao và cô đặc cao theo phương pháp truyền thống, vì vậy chất lượng của các sản phẩm này rất khó kiểm soát. Trong khi đó Dược điển Việt Nam V mới chỉ có chuyên luận về dược liệu lạc tiên, trong đó tổng flavonoid tính theo vitexin được định lượng bằng phương pháp đo quang. Các nghiên cứu về kiểm soát chất lượng tập trung trên đối tượng dược liệu hoặc chế phẩm viên nang nhiều thành phần. Do đó việc có quy trình đánh giá chất lượng sản phẩm cao lạc tiên là cần thiết.

Kết quả đánh giá hàm lượng vitexin và isovitexin có sự khác biệt khá lớn giữa các cơ sở sản xuất, trong đó có sản phẩm còn không phát hiện được các hoạt chất này trong cao. Nguyên nhân có thể do nguyên liệu ban đầu khác nhau về địa điểm và thời gian thu hái. Bên cạnh đó, phương pháp chế biến giữa các cơ sở sản xuất không đồng nhất cũng là nguyên nhân dẫn tới sự không đồng nhất trong chất lượng cao.

Trong bối cảnh nhiều người đang muốn tiếp cận với thuốc nguồn gốc thiên nhiên, sự không đồng nhất về chất lượng cao lạc tiên thể hiện qua sự chênh lệch đáng kể hàm lượng hai flavon, cho thấy cần thiết để quy định giới hạn dưới của hàm lượng các vitexin và isovitexin trong các chế phẩm cao lạc tiên để góp phần nâng cao chất lượng sản phẩm.

5. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy, quy trình đã xây dựng được phương pháp định lượng vitexin và isovitexin trong cao lạc tiên bằng HPLC có độ chính xác cao, độ đúng tốt, khoảng tuyến tính phù hợp, tính phù hợp hệ thống, tính chọn lọc cao và quy trình

xử lý mẫu khá đơn giản. Phương pháp này đã được áp dụng để định lượng vitexin và isoviteixn trong chế phẩm cao lạp tiên.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế thông qua đề tài NCKH cấp trường mã số 20/23.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lợi ĐT. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam: NXB Y học; 2004.
2. Viện Dược liệu. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam: NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội; 2003.
3. Lôi H, Hùng T. Khảo sát thành phần hóa học cây lạp tiên (*Passiflora foetida* - Passifloraceae). Tạp chí Dược Liệu. 2011;16(1+2):24-8
4. Dung NĐ, Hằng NT, Chí ND, Linh HT. Khảo sát hàm lượng flavonoid trong vỏ hạt một số giống đậu xanh bằng HPLC. Tạp chí Dược học. 2018;58(3):23-8.
5. Nguyễn TTT, Sơn NH, Cúc LTT, Vinh NN. Xây dựng quy trình định lượng đồng thời vicenin-2 và vitexin trong dược liệu rau đắng đất bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. Tạp chí Dược học. 2019;59(9):50-4.
6. Petenatti ME, Gettel MA, Popovich MC, Garro MF, Camí G, Aragón L, et al. Identificación de C-glicosilflavonas por HPLC y FTIR en extractos acuosos y metanólicos de *Passiflora caerulea* y *P. foetida* (Passifloraceae). Dominguezia. 2014;30(1):35-42.
7. Abourashed EA, Vanderplank JR, Khan IA. High-speed extraction and HPLC fingerprinting of medicinal plants—I. Application to *Passiflora* flavonoids. *Pharmaceutical Biology*. 2002;40(2):81-91.
8. Silva GC, Bottoli CB. Analyses of *Passiflora* compounds by chromatographic and electrophoretic techniques. *Critical reviews in analytical chemistry*. 2015;45(1):76-95.
9. N. P, o. L, L. S. Rapid reversed-phase high performance liquid chromatography for vitexin analysis and fingerprint of *Passiflora foetida*. *Current Science*. 2007;93:378-82.
10. Shuayprom A, Sanguanserm Sri D, Sanguanserm Sri P, Fraser IH, Wongkattiya N. Quantitative determination of vitexin in *Passiflora foetida* Linn. leaves using HPTLC. *J Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2016;6(3):216-20.
11. Sepúlveda P, Costa GM, Aragón DM, Ramos F, Castellanos L. Analysis of vitexin in aqueous extracts and commercial products of Andean *Passiflora* species by UHPLC-DAD. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2018;8(9):081-6.
12. Dr. George W Latimer J. Appendix K Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals 2023. In: *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (22) [Internet]. [AK1–AK32].