

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng vicenin 2 trong Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* (L.) DC., Molluginaceae)

Nguyễn Thị Thu Hiền, Hà Mỹ Nhân

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành
ntthien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Vicenin 2 là một flavonoid tự nhiên, có hoạt tính sinh học được chiết xuất từ nhiều loài thực vật, bao gồm Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* (L.) DC.). Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng vicenin 2 có tác dụng chống viêm, bảo vệ gan, hạ đường huyết, chống ung thư, ... Nghiên cứu đã tiến hành xây dựng và thẩm định quy trình định lượng vicenin 2 trong Rau đắng đất bằng HPLC-PDA đồng thời thẩm định các chỉ tiêu của quy trình định lượng, từ đó đề xuất một quy trình mới để định lượng vicenin 2 trong Rau đắng đất. Quy trình sử dụng cột sunfire C18 ($4,6 \times 150$ mm, $5 \mu\text{m}$), phát hiện ở bước sóng 335 nm, pha động $\text{CH}_3\text{CN}-\text{HCOOH}$ 0,1 %. “Dược điển Việt Nam V” đã có chuyên luận về Rau đắng đất nhưng chưa có tiêu chuẩn định lượng nên đây sẽ làm tiền đề để xây dựng quy trình định lượng các hoạt chất trong dược liệu này. Có thể áp dụng rộng rãi quy trình này, góp phần đưa các phương pháp kiểm nghiệm hiện đại để kiểm soát chất lượng Rau đắng đất nói riêng cũng như kiểm soát chất lượng dược liệu và các chế phẩm từ dược liệu nói chung.

Nhận 23/11/2022

Được duyệt 10/04/2023

Công bố 25/06/2023

Từ khóa

Cây Rau đắng đất,
Glinus oppositifolius,
vicenin 2

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Trong các nghiên cứu gần đây, Rau đắng đất (RĐĐ) – (*Glinus oppositifolius*) có tác dụng dược lí như tác dụng chống oxy hóa [0], bảo vệ gan [0], kháng viêm [0], ... Trên thị trường đã có các chế phẩm có chứa thành phần RĐĐ thường được sử dụng phổ biến như Boganic (Traphaco), BAR (Pharmedic), Livonic (BV pharma), ... , được sử dụng trong phòng ngừa và hỗ trợ điều trị viêm gan, chống suy giảm chức năng gan, xơ vữa động mạch, giảm lipid máu, ... Nhưng cho đến nay chưa có công bố về các phương pháp định tính, định lượng thành phần hóa học của cây và chế phẩm. HPLC là phương pháp hiệu quả được sử dụng rộng rãi trong hầu hết các lĩnh vực kiểm nghiệm thuốc nói chung và dược liệu nói riêng. Do tính phổ biến, độ lặp lại và độ chính xác cao nên đây được coi là một trong những kĩ thuật hàng đầu để đánh giá chất lượng sản phẩm. Các

nghiên cứu về thành phần hóa học đã cho thấy RĐĐ có 2 nhóm hoạt chất chính là saponin và flavonoid (trong đó nổi bật với hợp chất vicenin 2). Các nghiên cứu gần đây cho thấy vicenin 2 có đặc tính chống viêm [0], bảo vệ gan [0], hạ đường huyết [0], chống ung thư [0], ... “Dược điển Việt Nam V” đã có chuyên luận về RĐĐ nhưng chỉ kiểm tra khối lượng chất chiết được, không có chỉ tiêu định lượng nên không đánh giá được chất lượng dược liệu [0]. Nghiên cứu này có thể bổ sung dữ liệu cho công tác quản lí chất lượng dược liệu và thuốc từ dược liệu.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Phần trên mặt đất của cây RĐĐ được thu hái tại ấp Suối Cao A, xã Phước Đông, huyện Gò Dầu, tỉnh Tây Ninh vào tháng 1 năm 2022. Nguyên liệu cây tươi được loại

bỏ tạp, rửa sạch, phơi, sấy khô và xay thành bột thô (Hình 1).



Hình 1 Rau đắng đất tươi, sấy khô và tán bột

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Xây dựng quy trình định lượng

2.2.1.1 Chuẩn bị mẫu

Dược liệu khô RĐĐ được xay thành bột, sau đó rây qua rây số 355.

Mẫu thử: cân 100 mg bột dược liệu vào ống falcon 15 mL, thêm chính xác 10 mL methanol 50 % và cân khối lượng. Siêu âm 20 phút với tần số 40 kHz ở nhiệt độ phòng. Cân lại và bổ sung thêm dung môi đến khối lượng ban đầu, lắc đều. Sau đó dịch này được lọc bằng màng lọc 0,45 μ m. Mẫu này được sử dụng để khảo sát điều kiện sắc kí.

Mẫu chuẩn: cân 2 mg vicenin 2 (PhytoLab-Germany, số lô 9203, hàm lượng 95 % tính trên nguyên trạng) cho vào bình định mức 20 mL, hòa tan bằng methanol, thêm dung môi đến vạch thu được dung dịch chuẩn có nồng độ 100 ppm, lọc bằng màng lọc 0,45 μ m.

2.2.1.2 Khảo sát điều kiện sắc kí

Chọn điều kiện sắc kí thích hợp: peak tương ứng với chất chuẩn không bị dẫn rộng, hệ số đối xứng nằm trong khoảng 0,8-1,5, tách hoàn toàn với các peak khác trên sắc kí đồ, peak có độ tinh khiết đạt yêu cầu (PA (purity) < TH (auto threshold)), thời gian lưu không quá dài để giảm thời gian phân tích, tiết kiệm dung môi.

2.2.1.3 Khảo sát chuẩn bị mẫu

Mục tiêu: quy trình chiết xuất phải chiết được nhiều hoạt chất, ít tạp chất và phải chiết kiệt được hoạt chất cần định lượng. So sánh diện tích peak của vicenin 2 trong các điều kiện khảo sát. Các thông số khảo sát điều kiện chiết xuất khảo sát bao gồm:

a) Khảo sát dung môi chiết

Tiến hành: cân 100 mg bột dược liệu vào các ống falcon 15 mL, thêm chính xác 10 mL methanol (30, 50 và 70) %. Siêu âm 20 phút với tần số 40 kHz ở nhiệt độ phòng. Cân lại và bổ sung thêm dung môi đến khối lượng ban đầu, lắc đều. Sau đó dịch này được lọc bằng màng lọc 0,45 μ m trước khi phân tích trên HPLC dựa theo điều kiện đã khảo sát. Lựa chọn dung môi chiết được nhiều vicenin 2 nhất.

b) Khảo sát thời gian chiết xuất

Tiến hành: cân 100 mg bột dược liệu vào các ống falcon 15 mL, thêm chính xác 10 mL dung môi đã khảo sát, cân. Siêu âm các mẫu dược liệu lần lượt với thời gian (10, 20 và 30) phút với tần số 40 kHz ở nhiệt độ phòng. Cân lại và bổ sung thêm dung môi đến khối lượng ban đầu, lắc đều. Sau đó dịch chiết được lọc bằng màng lọc 0,45 μ m trước khi phân tích trên HPLC theo điều kiện đã khảo sát. Lựa chọn thời gian chiết được nhiều vicenin 2 nhất.

c) Khảo sát số lần chiết

Tiến hành: cân 100 mg bột dược liệu vào các ống falcon 15 mL, thêm chính xác 10 mL dung môi đã khảo sát, cân lại. Siêu âm các mẫu dược liệu lần lượt với thời gian đã khảo sát với tần số 40 kHz ở nhiệt độ phòng. Cân lại và bổ sung thêm dung môi đến khối lượng ban đầu, lắc đều. Lọc bằng màng lọc 0,45 μ m thu được dịch chiết lần 1. Bột dược liệu tiếp tục chiết ở điều kiện tương tự với 10 mL dung môi thu được dịch chiết lần 2. Tiến hành phân tích trên HPLC theo điều kiện đã khảo sát. So sánh diện tích peak của vicenin 2 ở các dịch chiết thu được.

2.2.2. Thẩm định quy trình định lượng

Theo ICH (International Conference on Harmonization), các yếu tố cần được đánh giá đối với quy trình phân tích định lượng bao gồm: tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng. Cần khảo sát thêm tính tương thích hệ thống khi thực hiện quy trình định lượng bằng HPLC.

- Khảo sát tính tương thích hệ thống: bơm 6 lần cùng một dung dịch mẫu thử. Khảo sát các thông số: thời gian lưu (tR), diện tích peak (S), hệ số dung lượng (k'), số đĩa lí thuyết (N), hệ số kéo đuôi (As). Yêu cầu [0]: Độ lệch chuẩn (RSD) của thời gian lưu của peak chính không được quá 1 %.

RSD của diện tích peak không được quá 2 %.

Hệ số dung lượng k': $k' \geq 1$

Độ phân giải Rs: $Rs \geq 1,5$

Hệ số kéo đuôi As: $0,8 \leq As \leq 1,5$

- Khảo sát tính đặc hiệu: tiêm mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chuẩn và mẫu thử thêm chuẩn vào hệ thống sắc kí. Phương pháp định lượng có tính đặc hiệu khi đạt các yêu cầu sau [0]:

- Sắc kí đồ mẫu trắng phải không xuất hiện peak cần khảo sát.

- Sắc kí đồ mẫu thử phải có peak chính có thời gian lưu không xuất hiện trong mẫu trắng.

- Khi thêm một lượng chất chuẩn vào một mẫu thử, diện tích peak của hoạt chất tăng lên so với trước khi thêm chất chuẩn.

- Khảo sát khoảng tuyến tính: khảo sát sự tương quan giữa nồng độ và diện tích peak của chất phân tích: chuẩn bị 6 dung dịch chuẩn có nồng độ khác nhau (2,5, 5, 10, 25, 50 và 100) ppm, bơm vào hệ thống sắc kí và ghi nhận các diện tích peak. Vẽ đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa diện tích peak theo nồng độ. Đánh giá tính tuyến tính gồm:

- Xác định phương trình hồi quy: $y = ax + b$
 - Sử dụng phân tích hồi quy với kiểm định t để kiểm tra ý nghĩa của các hệ số trong phương trình hồi quy và kiểm định F để kiểm tra tính thích hợp của phương trình hồi quy.

- Đánh giá hệ số tương quan R^2 . Yêu cầu $R^2 \geq 0,995$ [0]

- Áp dụng phương trình trên để định lượng các hợp chất điều chế

- Độ lặp lại: độ gần sát giữa các kết quả thử riêng rẽ x_i với giá trị trung bình.

Ảnh hưởng bởi sai số ngẫu nhiên.

Sắc kí 6 dung dịch thử khác nhau ở nồng độ thích hợp. Phương pháp có độ lặp lại khi đạt yêu cầu về độ lệch chuẩn tương đối của kết quả định lượng không quá 2 % [0].

- Độ đúng:

Tiến hành theo phương pháp thêm chuẩn, với nồng độ chuẩn thay đổi (80, 100 và 120) % so với hàm lượng tìm thấy trong dung dịch định lượng. Tiến hành sắc kí ở mỗi nồng độ với 3 mẫu khác nhau, tính hàm lượng của mẫu chuẩn thêm vào ở từng nồng độ, tỉ lệ (%) phục hồi ở từng nồng độ thêm vào.

$$\text{tỉ lệ phục hồi (\%)} = \frac{\bar{X}}{\mu} \times 100$$

μ : Hàm lượng chất chuẩn cho vào.

$\bar{X}$: Hàm lượng xác định được.

Yêu cầu: độ đúng của phương pháp phải nằm trong khoảng 90 % đến 107 % với giá trị $\%RSD \leq 2,0$

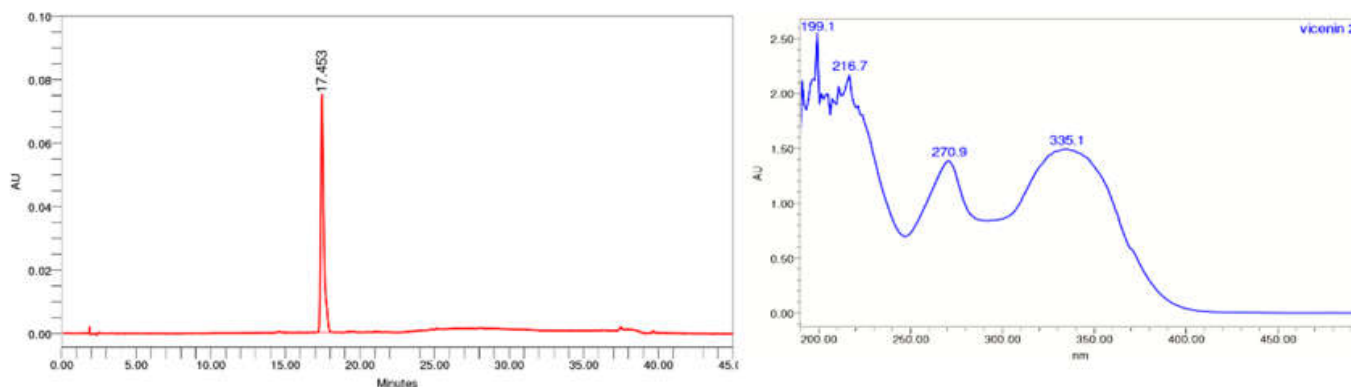
3 Kết quả và bàn luận

3.1 Xây dựng phương pháp HPLC định lượng vicenin 2 có trong cây RĐĐ

3.1.1 Khảo sát điều kiện sắc kí

Khảo sát bước sóng phát hiện

Khai triển mẫu chuẩn vicenin 2 trên HPLC với dải bước sóng phát hiện từ (200-500) nm. Chọn bước sóng có peak hấp thu cực đại ổn định và độ nhạy cao. Kết quả được trình bày ở Hình 2



Hình 2 Sắc kí đồ và phổ UV-Vis của vicenin 2

Nhận xét: vicenin 2 có 2 peak hấp thu cực đại tại 270 nm và 335 nm, trong đó peak hấp thu mạnh nhất tại

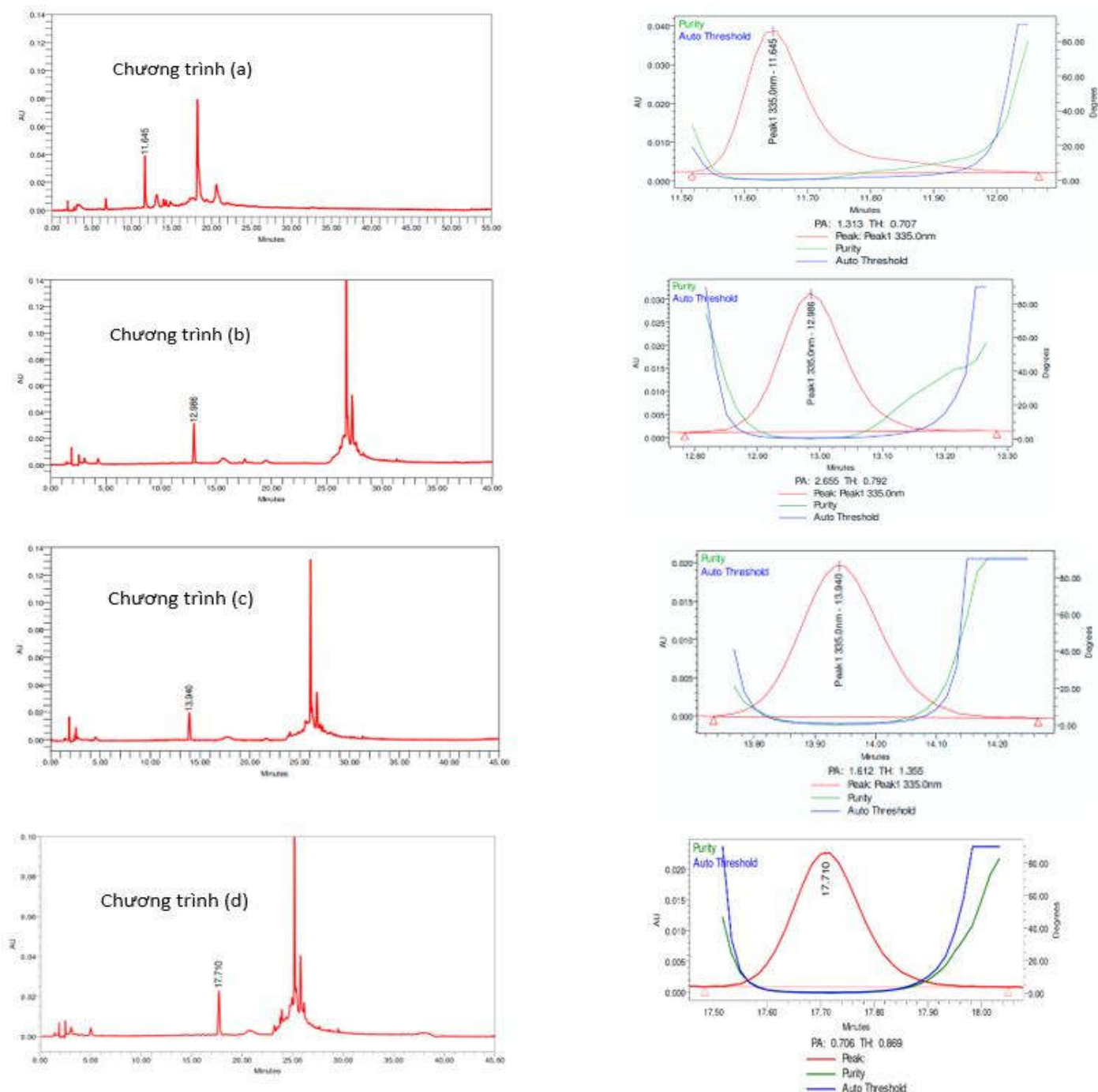
335 nm. Do đó, bước sóng 335 nm được chọn làm bước sóng phát hiện và định lượng vicenin 2.

Khảo sát chương trình dung môi

Bảng 1 Các chương trình pha động trong khảo sát dung môi rửa giải

	Thời gian (phút)	CH₃CN (%)	HCOOH 0,1 % (%)
Chương trình (a)	0	3	97
	25	50	50
	40	90	10
	45	90	10
	46	3	97
	55	3	97
Chương trình (b)	0	8	92
	5	8	92
	10	15	85
	15	20	80
	25	50	50
	30	90	10
	35	90	10
	36	8	92
	45	8	92
Chương trình (c)	0	8	92
	5	8	92
	10	15	85
	15	17	83
	25	50	50
	30	90	10
	35	90	10
	36	8	92
	45	8	92
Chương trình (d)	0	8	92
	5	8	92
	15	15	85
	20	17	83
	25	50	50
	30	90	10
	35	90	10
	36	8	92
	45	8	92

Kết quả phân tích được trình bày ở Hình 3



Hình 3 Sắc kí đồ và tinh khiết peak trong khảo sát chương trình dung môi rửa giải

Nhận xét:

- Chương trình (a), (b), (c): peak vicenin 2 vẫn chưa tách với các tạp kế cận, chưa đạt tinh khiết peak ($PA > TH$).
- Chương trình (d): peak vicenin 2 đã tách hẳn với các peak còn lại, peak đối xứng và đạt tinh khiết peak ($PA = 0,706 < TH = 0,869$).

Kết luận: chương trình (d) được chọn làm chương trình rửa giải

3.1.2 Khảo sát chuẩn bị mẫu

Khảo sát dung môi chiết

Bảng 2 Kết quả khảo sát dung môi chiết

Dung môi chiết	Số lần chiết	Hàm lượng (%)		%RSD
			trung bình	
MeOH–H₂O (30:70)	1	0,0465	0,0466	0,74
	2	0,0470		
	3	0,0463		
MeOH–H₂O (50:50)	1	0,0507	0,0511	1,38
	2	0,0519		
	3	0,0507		
MeOH–H₂O (70:30)	1	0,0500	0,0501	0,72
	2	0,0498		
	3	0,0505		

Nhận xét: tỉ lệ dung môi MeOH–H₂O (50:50) chiết xuất được hàm lượng vicenin 2 (0,0511 %) khác không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với tỉ lệ dung môi MeOH–H₂O (70:30) (0,0501) và cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tỉ lệ dung môi MeOH–H₂O (30:70) (0,0466). Để giảm tạp kém phân cực chọn tỉ lệ dung môi MeOH–H₂O (50:50)

Bảng 4 Kết quả khảo sát số lần chiết

Số lần chiết		Khối lượng mẫu (mg)	Diện tích peak ($\mu V \times s$)		%RSD	Hiệu suất (%)
				trung bình		
Chiết lần 1	1	100,1	216.424	216.424,70	0,56	97,50
	2	100,1	215.469			
	3	100,2	217.339			
Chiết lần 2	1	100,1	5.658	5.661,10	1,02	2,50
	2	100,1	5.605			
	3	100,2	5.720			

Nhận xét: kết quả thu được sau 1 lần chiết đã chiết gần kiệt vicenin 2 trong dược liệu (97,5 %) và để giảm thiểu sai số khi chiết nhiều lần nên phương pháp định lượng chiết dược liệu 1 lần.

Quy trình chiết xuất: cân 100 mg bột dược liệu vào ống falcon 15 mL, thêm chính xác 10 mL methanol 50 %, cân. Siêu âm 30 phút với tần số 40 kHz, nhiệt độ phòng.

Khảo sát thời gian chiết

Bảng 3 Kết quả khảo sát thời gian chiết

Thời gian chiết (phút)	Số lần chiết	Hàm lượng (%)		%RSD
			trung bình	
10	1	0,0483	0,0485	1,20
	2	0,0492		
	3	0,0481		
20	1	0,0490	0,0486	0,75
	2	0,0483		
	3	0,0485		
30	1	0,0508	0,0501	1,15
	2	0,0498		
	3	0,0497		

Nhận xét: thời gian chiết 30 phút chiết xuất được hàm lượng vicenin 2 (0,0501 %) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với thời gian chiết 10 phút (0,0485 %) và 20 phút ($p < 0,05$) (0,0486 %). Nên thời gian chiết 30 phút được chọn để chuẩn bị mẫu.

Khảo sát số lần chiết

Cân lại và bổ sung thêm dung môi đến khối lượng ban đầu, lắc đều. Sau đó dịch chiết được lọc qua màng lọc 0,45 μm .

3.2 Thẩm định quy trình định lượng vicenin 2 trong cây RĐđ bằng HPLC

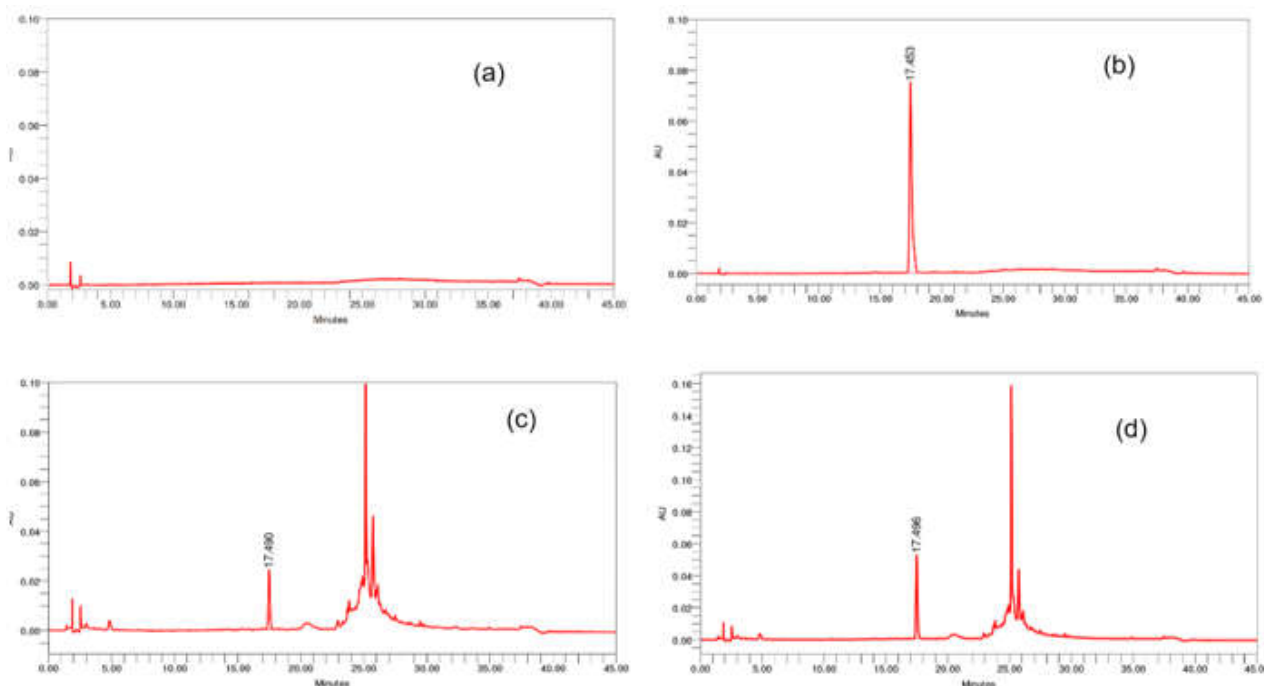
3.2.1 Tính tương thích hệ thống

Bảng 5 Độ tương thích hệ thống của HPLC định lượng vicenin 2

STT	Thời gian lưu (tR)	Diện tích peak ($\mu V \times s$)	Số đĩa lí thuyết (N)	Hệ số kéo đuôi (As)	Hệ số dung lượng (k')	Độ phân giải (R_s)
1	17,84	224.056	53.913	1,23	10,89	6,50
2	17,68	221.814	54.147	1,20	10,79	6,12
3	17,64	223.989	55.754	1,24	10,76	6,05
4	17,63	228.983	54.460	1,25	10,76	6,59
5	17,63	223.216	55.559	1,24	10,75	6,48
6	17,63	224.730	52.997	1,22	10,75	6,09
TB	17,675	224.464,7	54.471,67	0,8 < As < 1,5	$k' \geq 1$	$R_s > 1,5$
%RSD	0,47	1,08	1,91			

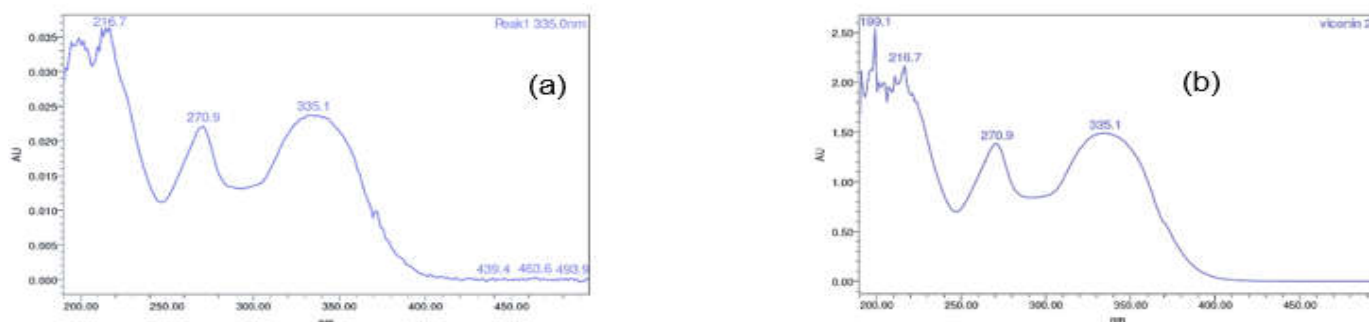
Nhận xét: thời gian lưu, diện tích peak có %RSD < 2; Hệ số kéo đuôi As < 1,5; Độ phân giải $R_s > 1,5$. Vậy, phương pháp đạt độ tương thích hệ thống.

3.2.2 Tính đặc hiệu



Hình 4 Sắc kí HPLC khảo sát tính đặc hiệu của phương pháp định lượng vicenin 2

(a) Mẫu trắng, (b) mẫu chuẩn, (c) mẫu thử, (d) mẫu thử thêm chuẩn



Hình 5 Phổ UV-Vis của vicenin 2 trong mẫu thử (a) và mẫu chuẩn (b)

Nhận xét:

Sắc kí đồ mẫu thử cho peak có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của vicenin 2 trong sắc kí đồ mẫu chuẩn.

Sắc kí đồ mẫu trắng không xuất hiện peak nào tại thời gian lưu của vicenin 2, đồng thời sắc kí đồ mẫu thử thêm chuẩn cho thấy chiều cao peak tại thời gian lưu vicenin 2 tăng lên đáng kể.

Phổ UV tại thời gian lưu của vicenin 2 trong mẫu thử trùng với phổ UV tại thời gian lưu của peak trong mẫu chuẩn.

3.2.3 Độ phụ thuộc tuyến tính

Bảng 6 Kết quả thể hiện khoảng tuyến tính của diện tích peak theo nồng độ mẫu thử

STT	Nồng độ (ppm)	Diện tích peak ($\mu V \times s$)
1	2,5	108.596
2	5	212.425
3	10	426.636
4	25	1.054.568
5	50	2.154.583
6	100	4.353.169

Xử lý kết quả bằng phần mềm MS-Excel:

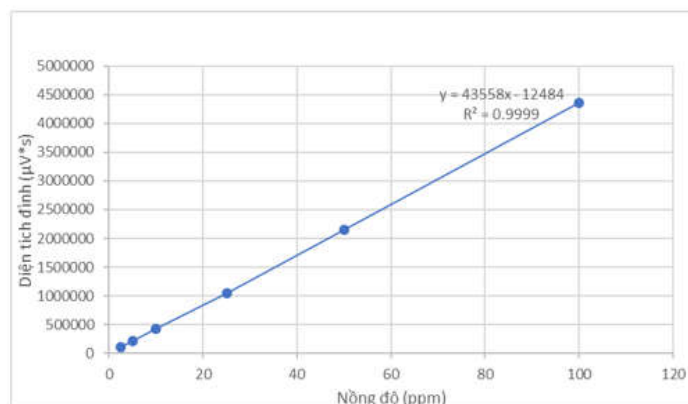
a. Kiểm định t: đánh giá ý nghĩa thống kê của các hệ số phương trình hồi quy:

+ kiểm định hệ số b: theo tính toán có $t = 1,48$; còn - theo tra bảng ở độ tin cậy 95 %, có $t = 2,57$. Vì thế, hệ số b không có ý nghĩa.

+ kiểm định hệ số a: - theo tính toán, có $t = 243,6$ còn - theo tra bảng ở độ tin cậy 95 %, có $t = 2,45$. Vì thế, hệ số a có ý nghĩa.

b. Kiểm định f: đánh giá sự tương quan nồng độ và diện tích peak: - theo tính toán có $f = 59330,2$ còn - theo tra bảng ở độ tin cậy 95 %, có $f = 7,71$. Vì thế, tương quan giữa nồng độ và diện tích peak có ý nghĩa.

Vậy, ta có phương trình hồi quy: $\hat{y} = 43558x$



Hình 6 Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa diện tích peak và nồng độ vicenin 2

3.2.4 Độ lặp lại

Bảng 7 Kết quả thể hiện độ lặp lại của phương pháp định lượng

Mẫu	Khối lượng (mg)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak ($\mu V \times s$)	Hàm lượng vicenin 2 (%)
1	100,1	17,81	219.208	0,0503
2	100,0	17,70	220.537	0,0506
3	100,1	17,60	220.485	0,0506
4	100,3	17,57	222.989	0,0510
5	100,3	17,55	224.118	0,0513
6	100,1	17,55	221.781	0,0509
Trung bình			221.519,7	0,0508
SD			1808,79	0,0004
%RSD			0,82	0,72

Nhận xét: $\%RSD = 0,72 (< 2)$ nên phương pháp định lượng đạt độ lặp lại.

3.2.5 Độ đúng

Bảng 8 Kết quả đánh giá độ đúng phương pháp định lượng vicenin 2

Hàm lượng (%)		Lượng thêm vào (mg)	Diện tích peak ($\mu V \times s$)	Lượng tìm thấy (mg)	Tỉ lệ hồi phục (%)
80	1	0,04	398.605	0,0405	101,28
	2	0,04	400.601	0,0410	102,42
	3	0,04	402.785	0,0415	103,67
100	1	0,05	441.690	0,0504	100,81
	2	0,05	447.005	0,0516	103,25
	3	0,05	447.537	0,0517	103,49
120	1	0,06	489.420	0,0614	102,27
	2	0,06	485.845	0,0605	100,90
	3	0,06	479.489	0,0592	98,72
Trung bình					101,87
%RSD					1,57

Nhận xét:

Mức hàm lượng thêm vào 80 %: tỉ lệ hồi phục trong khoảng (101,28-103,67) %

Mức hàm lượng thêm vào 100 %: tỉ lệ hồi phục trong khoảng (100,81-103,49) %

Mức hàm lượng thêm vào 120 %: tỉ lệ hồi phục trong khoảng (98,72-102,27) %

Như vậy: tỉ lệ hồi phục của các mẫu đều nằm trong khoảng giới hạn quy định (90-107) %

Kết quả thẩm định quy trình định lượng vicenin 2 cho thấy với quy trình xử lý mẫu và điều kiện sắc kí đã trình bày ở trên, phương pháp đạt độ đúng, độ chính xác, tính tuyến tính, tính tương thích hệ thống và độ lặp lại, có thể áp dụng để định lượng vicenin 2.

3.3 Quy trình định lượng vicenin 2 trong RĐĐ

Chuẩn bị mẫu: cân 100 mg bột dược liệu vào vào ống falcon 15 mL, thêm chính xác 10 mL methanol 50 %, cân. Siêu âm 30 phút với tần số 40 KHz, nhiệt độ phòng. Cân lại và bổ sung thêm dung môi đến khối lượng ban đầu, lắc đều. Sau đó dịch chiết được lọc qua màng lọc 0,45 μm .

Điều kiện HPLC:

- Hệ thống sắc kí: Water Alliance 2695, đầu dò PDA 2996.
- Cột: Sunfire C18 (4,6 $\times$ 150 mm, 5 μm)
- Nhiệt độ cột: 25 $^{\circ}C$
- Thể tích tiêm: 20 μL
- Tốc độ dòng: 1 mL/min
- Phát hiện: bước sóng 335 nm
- Pha động: $CH_3CN-HCOOH$ 0,1 % rửa giải theo chương trình

Thời gian (phút)	CH_3CN (%)	$HCOOH$ 0,1 % (%)
0	8	92
5	8	92
15	15	85
20	17	83
25	50	50
30	90	10
35	90	10
36	8	92
45	8	92

4 Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng vicenin 2 trong RĐĐ bằng HPLC sử dụng đầu dò PDA. Việc sử dụng một pha động đơn giản cùng với một loại cột sắc kí phổ biến (cột C18) góp phần vào khả năng ứng dụng rộng rãi quy trình định lượng này. Dược điển Việt Nam V đã có chuyên luận về RĐĐ nhưng chưa có chỉ tiêu về định lượng nên đây sẽ là tiền đề để xây dựng quy trình định lượng hoạt chất trong dược liệu này. Quy trình có thể được ứng dụng rộng rãi ở nước ta, góp phần đưa các phương pháp kiểm nghiệm hiện đại vào công tác kiểm tra chất lượng RĐĐ nói riêng cũng như kiểm soát chất lượng dược liệu và các chế phẩm từ dược liệu nói chung.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.12/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Hoque N., Imam M.Z., Akter S., Mazumder M., Hasan S., Ahmed J. , Rana M.S., (2011), “Antioxidant and antihyperglycemic activities of methanolic extract of *Glinus oppositifolius* leaves”, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1 (7), pp. 50-53
2. Gupta M., Mazumder U., Halder P. (2007), “Hepatoprotective activity of methanol extracts of *Glinus oppositifolius* and *Trianthema decandra* against paracetamol induced liver damage”, *International Journal Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 7(1), pp.74-78.
3. Vasincu Al., Miron A., Bild V., (2014), “Preliminary research concerning antinociceptive and antiinflammatory effects of two extracts from *Glinus oppositifolius*”, *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.*, 118 (3), pp. 866-872.
4. Marrassini C., Davicino R., Acevedo C., Anesini C., Gorzalczy S., Ferraro G. (2011), “Vicenin 2, a potential anti-inflammatory constituent of *Urtica circularis*”, *Journal of Natural Products*, 74(6), pp.1503-1507
5. Li S. et. al. (2008), “Chemical marker for quality control of herbal medicines: an overview”, *Chinese Medicine*, 3 (7)
6. Islam M.N., Ishita J., Jung A., Choi S. (2014), “Vicenin 2 isolated from *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties”, *Food and Chemical Toxicology*, 69(1), pp. 55-62.
7. Nagaprashantha L.D., Vatsyayan R., Singhal J., Fast S., Roby R., Awasthi S., Singhal S. (2011), “Anti-cancer effects of novel flavonoid vicenin 2 as a single agent and in synergistic combination with docetaxel in prostate cancer”, *Biochemical Pharmacology*, 82(9), pp.1100-1109.
8. Bộ Y tế (2017), Dược điển Việt Nam V, NXB. Y học, Hà Nội, tr. 1298-1299.
9. Nguyễn Đức Tuấn (2011), “Thẩm định quy trình phân tích”, Bộ môn Hóa phân tích – Kiểm nghiệm, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, tr. 86-98.

Development and validation of a method for quantification of vicenin 2 in *Glinus oppositifolius* (L.) DC. Molluginaceae

Nguyen Thi Thu Hien, Ha My Nhan

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

ntthien@ntt.edu.vn

Abstract Vicenin-2 is a natural, bio-active flavonoid extracted from several plant species including *Glinus oppositifolius*. Recent studies have shown that Vicenin-2 has anti-inflammatory activity, hepatoprotection, hypoglycemic, anti-cancer, ... Research has been conducted to develop and validate Vicenin 2 in *Glinus oppositifolius* with HPLC-PDA while validating the standard of the determination process, thereby proposing a new to determine Vicenin-2 in *Glinus oppositifolius*. The procedure was performed with Sunfire C18 Column (4.6 × 150 mm, 5 μm), and using the mixture of 0.1 % CH₃CN–HCOOH as a mobile phase. The UV detection was performed at 335 nm. “Vietnamese Pharmacopoeia V” has a monograph on *Glinus oppositifolius*, but there is no quantitative criterion, so this will be the premise to develop a process to quantify the active ingredients in this medicinal herb. The procedure has the potential to be widely utilized in our nation, and contribute to bringing modern testing procedures for *Glinus oppositifolius* quality control in particular, along with herbs and herbal medicines in general.

Keywords Mollugo opposifolia, *Glinus oppositifolius*, vicenin 2