

Ứng dụng chất chuẩn imperatorin để khảo sát hàm lượng imperatorin từ nguyên liệu Bạch chỉ ở thị trường TP.HCM

Lê Hải Đường*, Mai Thanh Nhân

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*lhduong@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Trong đề tài nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng phương pháp kết hợp sắc kí lớp mỏng và sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) với đầu dò PDA để định tính và định lượng imperatorin. Imperatorin có trong mẫu Bạch chỉ thu mua tại Công ty Dược liệu Bình Minh và dược liệu Bạch chỉ thu mua tại thị trường ở Tp. HCM (Hải Thượng Lãn Ông). Từ kết quả thực nghiệm cho thấy, giá trị R_f của chất chuẩn so với hai mẫu khảo sát trên sắc kí lớp mỏng tương đương nhau. Phần trăm hàm lượng imperatorin trong hai mẫu dược liệu Bạch chỉ lần lượt là 0,084 % và 0,037%. Phần trăm độ lệch chuẩn tương đối (% RSD) có trong hai mẫu dược liệu Bạch chỉ lần lượt là 0,23%; 0,47 %. Do đó, phương pháp có độ chính xác và ổn định cao.

Nhận 06.09.2018

Được duyệt 29.11.2018

Công bố 25.12.2018

Từ khóa

Angelica, Imperatorin, TLC, HPLC

© 2018 Journal of Science and Technology – NTTU

1 Giới thiệu

Bạch chỉ là cây thân thảo, sống lâu năm, cao 1-1,5m, thân rộng, lá to, có cuống dài phát triển thành bẹ rộng, phiến lá xẻ 2-3 lần, hình lông chim. Quả bế, hoa trắng. Rễ phình thành củ dài mọc thẳng, đôi khi phân nhánh, nhiều bột, mùi thơm, vị cay đắng. Bạch chỉ được du nhập từ Trung Quốc vào Việt Nam. Từ năm 1960, Bạch chỉ đã được trồng ở một số tỉnh thành như Sa Pa, Tam Đảo, Đà Lạt, Kon Tum [4,6,7].

Rễ Bạch chỉ có chứa tinh dầu và hợp chất coumarin như isoimperatorin, bergapten, oxypeucedanin, glycosid, trong đó quan trọng nhất phải kể đến imperatorin. Imperatorin có tên danh pháp là 9-(3-Methylbut-2-enoxy)-7-furo[3,2]chromenone[8]. Nhiều tác giả đã nghiên cứu, chiết xuất và phân lập imperatorin từ Bạch chỉ, trong số đó có: Jie Kang và cộng sự [11] đã xác định được 20 hợp chất bằng phương pháp HPLC/MS/MS trong rễ Bạch chỉ *Angelica dahurica* thu hái ở tỉnh Hà Nam, Trung Quốc [9]. Wei Y. và cộng sự [10] đã cô lập và tinh chế imperatorin, oxypeucedanin và isoimperatorin từ dược liệu *Angelica dahurica* bằng phương pháp sắc kí điều chế nhanh (Preparative high-speed counter-current chromatography, CCC). Qinhua C. và cộng sự [11] đã phân lập được phellopterin, isoimperatorin, imperatorin, alloimperatorin, byakangelicin, isooxypeucedanin từ dược liệu *Angelica dahurica* bằng phương pháp chiết xuất siêu tới hạn SFE. Long. Hu và cộng

sự [12] cũng đã áp dụng phương pháp chiết xuất siêu tới hạn SFE và so sánh với chiết lỏng để phân lập được 0,144 % imperatorin trong dược liệu Bạch chỉ.

Bạch chỉ là một trong những cây thuốc quý trong y học cổ truyền Việt Nam cũng như một số nước Châu Á khác (Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản,...). Trong dân gian, Bạch chỉ được dùng phổ biến để trị giảm đau chống viêm, tác dụng trên trung khu thần kinh và tim mạch. Dược điển Trung Quốc ban hành năm 2010 có qui định kiểm tra chỉ định tính và định lượng imperatorin trong Bạch chỉ. Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có đề tài nghiên cứu thiết lập được chất chuẩn để kiểm tra hàm lượng imperatorin trong dược liệu Bạch chỉ. Vì thế, trong đề tài nghiên cứu này, chúng tôi ứng dụng chất chuẩn imperatorin Trung Quốc để khảo sát hàm lượng dược liệu Bạch chỉ và sản phẩm thuốc từ dược liệu Bạch chỉ tại thị trường Việt Nam.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu

Rễ Bạch chỉ được thu hái ở nông trường của Công ty Dược liệu Bình Minh, Hà Giang đã được kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV, và rễ Bạch chỉ mua tại thị trường phố Hải Thượng Lãn Ông, TP. HCM.

2.2 Hóa chất, dung môi

Các dung môi hóa chất nghiên cứu đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.



Dung môi dùng cho sắc kí lỏng acetonitril, methanol đạt tiêu chuẩn dùng cho HPLC.

Chất chuẩn định tính imperatorin của Chromadex.

2.3 Dụng cụ, trang thiết bị

Cân phân tích 5 số lẻ Meltler Tolodo.

Máy cô quay Büchi 1 lít - 210S (Nhật).

Bể siêu âm Sonorex RK - 1028H (Bandelin, Đức).

Đèn UV 2 bước sóng 254/365 CN-15-LC (Vilber Loumart).

Cột sắc kí: cột Phemonemex C18 (250mm x 21,5; 5 μ m) và tiền cột C18 (5 x 21,5mm; 5 μ m); cột Aglient và tiền cột C18 (250 x 4,6mm; 5 μ m). Silicagel 63-200 μ m dùng trong sắc kí cột.

Máy sắc kí lỏng hiệu năng cao Shimadzu LC-20A (Nhật), detector PDA. Phần mềm LC Solution truy xuất hình ảnh, số liệu cho định tính, định lượng trên máy HPLC.

2.4 Phương pháp nghiên cứu

2.4.1 Chiết xuất

Chiết imperatorin có trong Bạch chỉ bằng cách dùng sắc kí cột với hạt nhồi silicagel 63-200 μ m và dung môi giải li, theo % tỉ lệ dung môi với các hệ dung môi có độ phân cực tăng dần [1].

2.4.2 Định tính

- Định tính bằng sắc kí lớp mỏng:

Chất hấp phụ: silicagel GF₂₅₄, bản nhôm tráng sẵn (Merck).

Hệ dung môi khai triển: n-hexan-ethyl acetat (8:2).

Lượng chấm: khoảng 10 μ L.

Thuốc thử phát hiện: Soi đèn UV 254 và 365nm so sánh với vết của chất đối chiếu.

2.4.3 Định lượng

- Định tính bằng kĩ thuật HPLC-PDA: Đánh giá phổ UV và độ tinh khiết pic của sắc kí đồ ghi nhận được [2].

Hệ thống sắc kí: HPLC.

- Cột: Aglient C18, kích thước cột 250 x 4,6mm; kích thước hạt 5 μ m.

- Nhiệt độ cột: Nhiệt độ phòng.

- Thể tích tiêm: 20 μ L.

- Tốc độ dòng: 1,0ml/1 phút.

- Phát hiện: UV, bước sóng 254nm.

- Pha động: acetonitrile - nước (70:30).

Dung dịch thử: Cân khoảng 5mg mẫu thử cho vào bình định mức 10ml. Thêm pha động, siêu âm 5 phút. Để nguội, bổ sung pha động đến vạch. Lắc đều, lọc qua màng lọc 0.45 μ m.

Tiến hành: Lần lượt tiêm vào hệ thống mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử. Ghi nhận sắc kí đồ mẫu thử, mẫu trắng.

Tính hàm lượng % độ tinh khiết sắc kí.

2.4.4 Thẩm định qui trình định lượng [5]

- Khảo sát tính tương thích hệ thống

Cân bằng cột bằng pha động trong ít nhất 30 phút. Tiến hành sắc kí mẫu chuẩn với ít nhất 6 lần tiêm mẫu liên tiếp. Khảo sát các thông số: thời gian lưu, diện tích đỉnh, hệ số dung lượng k', hệ số kéo đuôi A_S, độ phân giải R_S và số đĩa

lí thuyết N.

Yêu cầu:

- Độ lệch chuẩn (RSD) của thời gian lưu của pic chính không được quá 1%.

- Độ lệch chuẩn (RSD) của diện tích pic chính không được quá 2%.

- Hệ số kéo đuôi As: 0,8 – 1,5.

- Khảo sát tính đặc hiệu (tính chọn lọc):

Đảm bảo kết quả xác định hàm lượng chất cần phân tích trong mẫu là chính xác, tránh ảnh hưởng của các thành phần khác có trong mẫu. Với kĩ thuật HPLC sử dụng đầu dò PDA kiểm tra độ tinh khiết của pic.

Tiến hành sắc kí lần lượt mẫu thử, mẫu chuẩn, mẫu thử thêm chuẩn và mẫu trắng.

Yêu cầu:

- Thời gian lưu của pic chất cần định lượng trong mẫu thử phải tương đương với thời gian lưu của pic chất chuẩn tương ứng trong mẫu chuẩn.

- Sắc kí đồ mẫu trắng không xuất hiện pic tại thời gian lưu của chất khảo sát.

- Pic chất khảo sát không có các thành phần khác khi sử dụng chức năng kiểm tra độ tinh khiết của đầu dò PDA.

- Khảo sát khoảng tuyến tính:

Tiến hành sắc kí tối thiểu 5 mức nồng độ khác nhau, đo và xác định diện tích đỉnh ở từng nồng độ. Thiết lập phương trình hồi qui và vẽ đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa diện tích đỉnh và nồng độ.

Phương trình hồi qui: $y = ax + b$

Sử dụng trắc nghiệm t để kiểm tra ý nghĩa của các hệ số trong phương trình

- Nếu $t_0 < t_{0,05}$: Hệ số b không có ý nghĩa thống kê.

- Nếu $t_0 > t_{0,05}$: Hệ số b có ý nghĩa thống kê.

Sử dụng trắc nghiệm F để kiểm tra tính thích hợp của phương trình hồi qui.

- Nếu $F < F_{0,05}$: Phương trình hồi qui không tương thích.

- Nếu $F > F_{0,05}$: Phương trình hồi qui tương thích.

Yêu cầu: Hệ số tương quan $R^2 \geq 0,995$.

- Khảo sát độ lặp lại:

Mức độ sát gần giữa các kết quả thử riêng rẽ x_i với giá trị trung bình.

Ảnh hưởng bởi sai số ngẫu nhiên.

Tiến hành sắc kí tối thiểu 6 mẫu thử ở nồng độ 100% so với nồng độ đo.

Tiến hành xử lí thống kê các số liệu, xác định độ lệch chuẩn tương đối.

Yêu cầu: $RSD \leq 2\%$.

- Khảo sát độ đúng:

Mức độ sát gần của các giá trị tìm thấy so với giá trị thực.

Ảnh hưởng bởi sai số hệ thống.

Sử dụng phương pháp dựa vào đường tuyến tính, với nồng độ thay đổi 80%, 100%, 120% so với nồng độ đo. Tiến hành sắc kí ở mỗi nồng độ trên với 3 mẫu khác nhau, tính

% tỉ lệ phục hồi ở từng nồng độ so với lí thuyết.

Yêu cầu: Tỉ lệ phục hồi ở từng nồng độ phải từ 98 – 102%.

- Miền giá trị:

Khoảng giữa nồng độ cao và nồng độ thấp của chất cần phân tích có trong mẫu thử đáp ứng độ chính xác, độ đúng, tính chất tuyến tính, thường được biểu thị bằng khoảng nồng độ vẫn còn sự phụ thuộc tuyến tính giữa giá trị đo được và nồng độ.

Được xác định bằng cách:

* Khảo sát và đánh giá tính tuyến tính.

* Khẳng định khoảng này có đáp ứng tính tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại. Yêu cầu tối thiểu của miền giá trị: 80-120% nồng độ của mẫu thử.

- Các công thức sử dụng:

Giá trị trung bình:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Độ lệch chuẩn (Standard Deviation):

$$SD = S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Độ lệch chuẩn tương đối (Relative Standard Deviation) hay hệ số phân tán (Coefficient of Variation):

$$RSD = CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$$

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Thẩm định qui trình định lượng

3.1.1 Tính tương thích của hệ thống

Bảng 1 Khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc kí định tính, định lượng imperatorin sau 6 lần tiêm liên tiếp (n=6)

Số lần	t _R (phút)	Diện tích đỉnh	Số đĩa lí thuyết	Hệ số đối xứng
1	4,673	21218728	1501	1,387
2	4,673	21218728	1501	1,387
3	4,661	21107485	1464	1,378
4	4,664	21206199	1483	1,385
5	4,674	21123335	1494	1,388
6	4,688	21204263	1497	1,390
TB	6,672	21179789	1490	1,385
RSD (%)	0,202	0,238	0,964	0,300

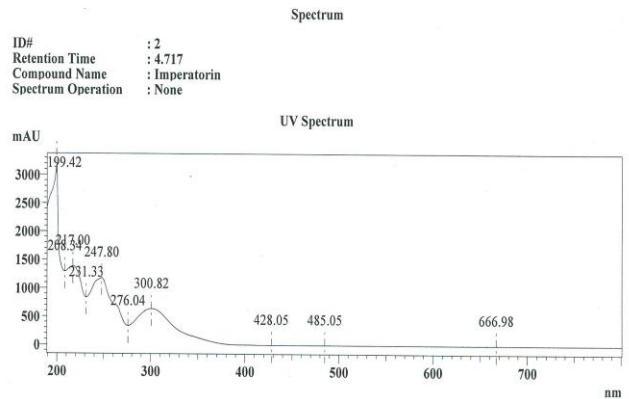
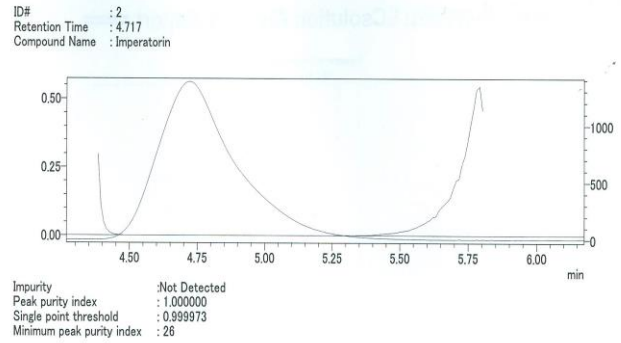
Nhận xét: RSD của thời gian lưu là 0,202 % nhỏ hơn 1%; RSD của diện tích đỉnh, số đĩa lí thuyết, hệ số đối xứng tương ứng là 0,238 %, 0,964% và 0,300 % nhỏ hơn 2%. Như vậy hệ thống đạt tính tương thích.

3.1.2 Tính đặc hiệu

Tiêm mẫu trắng, mẫu thử vào hệ thống sắc kí. Kết quả cho thấy:

Thời gian lưu của pic imperatorin trong mẫu thử là 4,672 phút, đồng thời mẫu trắng không có pic trùng với pic chuẩn. Sử dụng chức năng kiểm tra độ tinh khiết cho thấy pic imperatorin không có các thành phần khác trong tất cả các mẫu (0,9999).

Do đó phương pháp phân tích imperatorin đã thực hiện có tính đặc hiệu.



Hình 1 Sắc kí đồ đánh giá đặc hiệu imperatorin

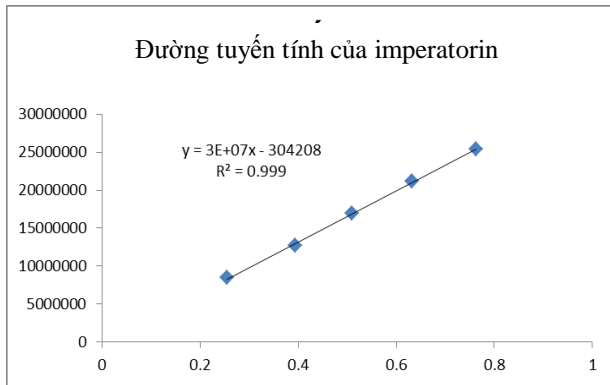
3.1.3 Tính tuyến tính và miền giá trị

Tiến hành sắc kí 5 mẫu với nồng độ tăng dần từ 0,250 – 0,800mg/ml. Kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2 Sự tương quan giữa diện tích đỉnh và nồng độ

Số thứ tự	Nồng độ (mg/ml)	Diện tích đỉnh trung bình
1	0,2545	8437051
2	0,3942	12668691
3	0,5090	16900574
4	0,6318	21218728
5	0,7735	253354163

Phương trình hồi qui $y = 33725125,961 x - 304208,216$
 Hệ số tương quan $r^2 = 0,9990$



Hình 2 Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa diện tích đỉnh và nồng độ

Nhận xét: $R^2 = 0,999$ như vậy có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích đỉnh và nồng độ, chọn nồng độ đo là 0,5mg/ml là thích hợp.

3.1.4 Độ lặp lại

Kết quả đánh giá độ lặp lại được trình bày trong Bảng 3

Bảng 3 Kết quả độ lặp lại của phương pháp

Số lần xác định	(%) tinh khiết	Số liệu thống kê
1	99,83	n = 6 $\bar{x} = 99,80 \%$ SD = 0,041 % RSD = 0,043 % e = ± 0,1028 $\mu = 99,80 \pm 0,1028 (\alpha = 0,05)$
2	99,83	
3	99,78	
4	99,72	
5	99,80	
6	99,82	

Nhận xét: Độ tinh khiết sắc kí trung bình của imperatorin là 99,80 %, RSD < 2,0 %. Vậy phương pháp đạt độ lặp lại.

3.1.5 Độ đúng

Kết quả đánh giá được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4 Kết quả đánh giá độ đúng phương pháp dựa vào đường tuyến tính

Mức nồng độ đo (%)	Imperatorin			
	Diện tích pic	Nồng độ đo ở các mức (mg/ml)	Nồng độ (mg/ml) tính từ phương trình hồi qui	Tỉ lệ hồi phục %
80%	16898966	0,5146	0,5101	99,16
	16902182	0,5146	0,5102	
	16908513	0,5146	0,5104	
100%	21214150	0,6432	0,6381	99,21
	21223305	0,6432	0,6383	
	21214150	0,6432	0,6381	
120%	25368098	0,7718	0,7612	98,56
	25340227	0,7718	0,7604	

Nhận xét: Tỉ lệ hồi phục của các mẫu ở từng nồng độ đều nằm trong khoảng giới hạn 98,0-102,0%. Vậy phương pháp đạt độ đúng.

Từ kết quả đánh giá trên cho thấy với điều kiện sắc kí đã trình bày ở trên, phương pháp đạt tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, miền giá trị, độ lặp lại, độ đúng. Phương pháp định lượng này có thể được áp dụng để định lượng imperatorin trong chất khảo sát.

3.2 Khảo sát hàm lượng imperatorin trong mẫu Bạch chỉ được thu mua tại Công ty Dược liệu Bình Minh, Hà Giang và tại thị trường phố Hải Thượng Lãn Ông, TP. HCM

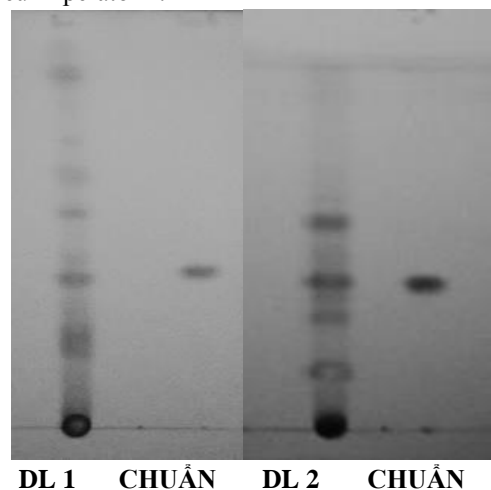
3.2.1 Định tính imperatorin

Nhằm xác định sự hiện diện của imperatorin có trong mẫu chiết, chúng tôi chọn phương pháp sắc kí lớp mỏng dùng dung môi n-hexan: ethyl acetat theo % tỉ lệ dung môi (80:20) và bản mỏng Si F254. Trong đó:

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 5mg imperatorin vào bình định mức 5ml, định mức đến vạch bằng dung môi ethyl acetat, thu được dung dịch chuẩn có nồng độ 1mg.ml⁻¹.

Dung dịch thử: Cân chính xác 0,5g bột Bạch chỉ vào becher, thêm 20ml dung môi ether và tiến hành siêu âm trong 15 phút. Tiến hành lọc và cô dịch chiết đến cạn, sau đó hòa tan cần trong 10ml ethyl acetat.

Tiến hành chấm sắc kí khoảng 5µl dung dịch chuẩn và thử trên bản mỏng. Triển khai hệ dung môi trên. Tiếp theo, lấy bản mỏng để khô tự nhiên rồi soi dưới đèn UV tại bước sóng λ=254nm và λ=365nm, dùng bút khoan lại vết của dung dịch chuẩn và thử trên bản mỏng silicagel. Kết quả thực nghiệm thu được với sắc kí đồ ở Hình 3, vết của dung dịch thử có cùng giá trị R_f so với vết của dung dịch chuẩn đối chiếu imperatorin.



Hình 3 Hình chụp bản mỏng của mẫu chuẩn và thử

3.2.2 Định lượng imperatorin bằng HPLC

Để xác định hàm lượng imperatorin có trong Bạch chỉ, chúng tôi dùng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao với các điều kiện như sau:

Điều kiện sắc kí:

- Cột: C18 150 x 4,6mm, kích thước hạt 5µm (cột Gemini 110A)

- Pha động: Methanol – H₂O với tỉ lệ (65:35)
- Detector: UV 254nm
- Tốc độ dòng: 1,0ml/ phút
- Nhiệt độ: Nhiệt độ phòng
- Thể tích tiêm: 20μl
- Dung môi pha mẫu: Methanol

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 7,5mg imperatorin cho vào bình định mức 50ml và định mức tới vạch bằng methanol. Hút chính xác 2ml dung dịch này vào bình định mức 20ml và định mức tới vạch bằng methanol. Dung dịch chuẩn sau khi pha có nồng độ 15μg.ml⁻¹.

Dung dịch thử: Cân chính xác 400mg cao dược liệu Bạch chỉ đã nghiền mịn vào becher 50ml, thêm khoảng 35ml dung môi methanol, đem đi siêu âm ở 40⁰C trong 30 phút, sau đó để nguội, chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 50ml và định mức tới vạch bằng methanol. Hút chính xác 2ml dung dịch này chuyển vào bình định mức 20ml và định mức tới vạch bằng methanol. Tiến hành tiêm vào hệ thống sắc kí với các dung dịch trên.

Công thức tính hàm lượng % imperatorin:

$$H(\%) = \frac{S_t}{S_c} \times \frac{m_c}{m_t} \times F \times \%P$$

Trong đó:

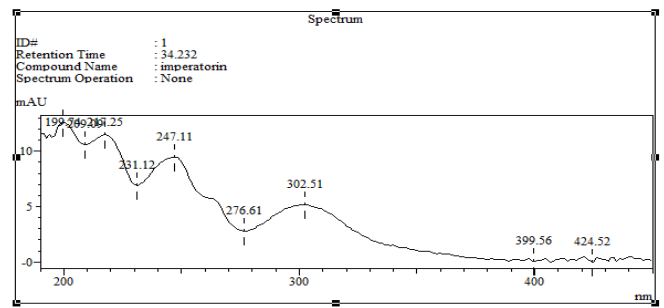
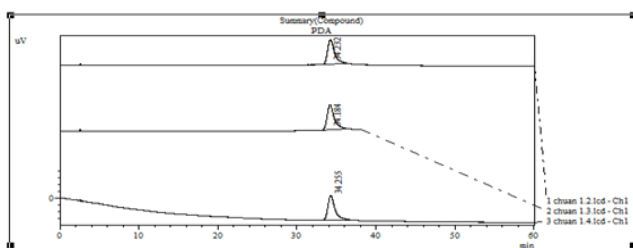
- S_c, S_t: diện tích đỉnh của dung dịch chuẩn và thử
- m_c, m_t: khối lượng cân của mẫu chuẩn và mẫu thử (mg)
- F: hệ số pha loãng (F = 1)
- %P: hàm lượng % chuẩn imperatorin

Định tính bằng HPLC dựa vào thời gian lưu (t_R) và phổ hấp thụ UV:

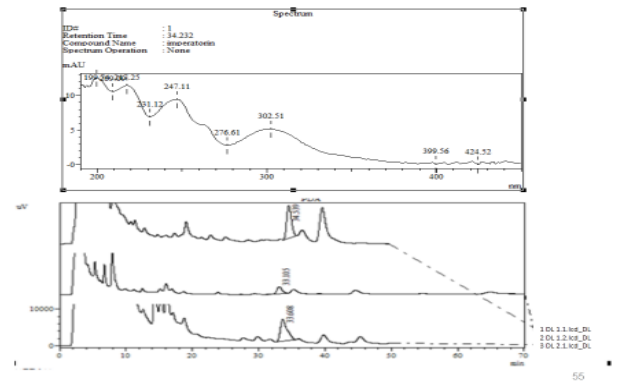
Bảng 5 Tính đặc hiệu định tính imperatorin trong Bạch chỉ bằng HPLC

	Thời gian lưu trung bình ± RSD %	Phổ hấp thụ UV
t _R của chuẩn	34,001 ± 0,63	Phổ UV có các cực đại λ _{max} ở 231, 247 và 302nm
t _R của DL1	33,910 ± 0,23	Phổ UV có các cực đại λ _{max} ở 230, 247 và 305nm
t _R của DL2	33,085 ± 0,93	Phổ UV có các cực đại λ _{max} ở 232, 247 và 302nm

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====



Hình 4 Sắc kí đồ và phổ UV của dung dịch chuẩn Imperatorin



Hình 5 Sắc kí đồ và phổ UV của mẫu thử

Kết quả định lượng:

Bảng 6 Kết quả định lượng imperatorin trong Bạch chỉ

Tên mẫu	Khối lượng chuẩn/bột Bạch chỉ cân (mg)	Trung bình diện tích đỉnh chuẩn (n=6)	Trung bình diện tích đỉnh mẫu thử (n=3)	% Hàm lượng
Chuẩn đối chiếu	7,69	454419 ± 0,13		
DL1	402,00		199395 ± 0,23	0,084
DL2	517,00		113176 ± 0,47	0,037

Yêu cầu theo Dược điển Trung Quốc: hàm lượng imperatorin không được ít hơn 0,08 %.

Nhận xét: Từ kết quả thực nghiệm, % RSD thời gian lưu của mẫu chuẩn và thử (% RSD = 0,19) đạt yêu cầu % RSD ≤ 1,0, %. Theo tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc, % hàm lượng imperatorin ≥ 0,08 % nên mẫu Bạch chỉ được thu mua thuộc Công ty Dược liệu Bình Minh - Hà Giang ở trên đạt yêu cầu chất lượng.

4 Kết luận và đề xuất

Qua thời gian thực hiện đề tài nghiên cứu đã ứng dụng chất chuẩn để kiểm tra chất lượng Bạch chỉ trên thị trường, kết quả khảo sát ban đầu cho thấy hàm lượng imperatorin trong Bạch chỉ thuộc Công ty Dược Hà Giang có chất lượng ổn định và đạt tiêu chuẩn hàm lượng theo Dược điển Trung Quốc.

Trong quá trình thực hiện đề tài mặc dù đã có nhiều cố gắng nhưng do hạn chế về thời gian và điều kiện làm việc nên nghiên cứu này chỉ mới thu được kết quả đã nêu trên. Đề tài cần tiếp tục nghiên cứu theo những hướng sau:

- Thiết lập chất chuẩn imperatorin trong Bạch chỉ thu mua từ Công ty Dược liệu Bình Minh (Hà Giang) và ứng dụng

để khảo sát dược liệu Bạch chỉ và dược phẩm chứa Bạch chỉ trên thị trường Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ một phần kinh phí thực hiện thông qua đề tài nghiên cứu cấp cơ sở với mã số đề tài 2017.01.30

Tài liệu tham khảo

1. Viện Dược liệu (2008); *Phương pháp chiết xuất dược liệu*; Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
2. Nguyễn Minh Đức (2006); *Sắc kí lỏng hiệu năng cao và một số ứng dụng vào nghiên cứu, kiểm nghiệm dược phẩm, dược liệu và hợp chất tự nhiên*; Nhà xuất bản Y học Tp.HCM.
3. Bộ Y tế (2010); *Dược điển Việt Nam IV*; Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
4. Đỗ Tất Lợi (1995); *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*; Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
5. Hà Diệu Ly (2010); *Thiết lập tính liên kết chuẩn đảm bảo kết quả thử nghiệm*; Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. HCM.
6. Viện Dược liệu (2015); *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*; Tập 2; Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
7. Đỗ Tất Lợi, Đỗ Văn Thu (2000); *Dược liệu học và các vị thuốc của Việt Nam*; Tập 1; Nhà XB Y học và Thể thao Hà Nội.
8. Lechnera D., Stavria M, Oluwatuyia M, Mirandab R. P, Simon G. (2004), "The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica* (Baizhi)", *Phytochemistry*.
9. Kang J., Lei Z., Jianghao S., Han J., De-An G. (2008), "Chromatographic fingerprint analysis and characterization of furocoumarins in the roots of *Angelica dahurica* by HPLC/DAD/ESI-MSn technique", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.
10. Long-Hu, Yan-Hong W.M., Feng W., Xue-Song L., Yong C. A. (2011), "Novel and efficient method combining SFE and liquid-liquid extraction for separation of coumarins from *Angelica dahurica* Separation", *Purification Technology*.
11. Wei Y., Ito Y. (2006), "Preparative isolation of imperatorin, oxypeucedamin and isoimperatorin from traditional Chinese herb "Bai Zhi" *Angelica dahurica* using multidimensional high-speed counter-current chromatography", *J. of Chromatography A*, 1115, pp. 112-117.
12. Qinhuo C., Li P., He J., Zhang Z. (2008), "Supercritical fluid extraction for identification and determination of volatile metabolites from *Angelica dahurica* by GC-MS", *J. Sep. Sci.*, 31, pp. 3218-3224.

Imperatorin standard application for quantification determination of imperatorin from *Angelica* in the market of HCM city

Duong Le Hai* ; Nhan Mai Thanh

Faculty of pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

*lhduong@ntt.edu.vn

Abstract In this project, we practiced the combination method of Thin Layer Chromatography (TLC) and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with PDA detector to determine Imperatorin presence and its quantification. Imperatorin was got from *Angelica* cataplasm samples at Binh Minh pharmaceutical company and in the market on Hai Thuong Lan Ong street. From experimental result, the R_f Value of the Standard Source comparing to the two examination samples by TLC were equivalent. Percents of Quantification of Imperatorin in the pharmaceutical sample were 0,84% and 0,37%. Percents of relative standard deviation (% RSD) in the pharmaceutical sample were 0,23±0,47%. Therefore, the Accuracy and the Stableness of this method is high.

Keywords *Angelica*, Imperatorin, TLC, HPLC