

DEVELOPMENT OF HPLC METHOD FOR QUANTIFYING DIHYDROMYRICETIN IN CHE DAY TEA HERB AND ITS PREPARATION

PHAM THI MINH HAI¹, DAO THU HA¹, NGUYEN THI TRAM¹,
VU THI HUYEN TRANG¹, VU VAN TUAN¹, ✉

¹Dai Nam University

✉ Corresponding author: tuanvv@dainam.edu.vn

Received February 3rd, 2026; Accepted March 19th, 2026

Abstract: This study aimed to develop a novel, simple, and specificity method for the quantification of dihydromyricetin (DMY) in raw herbal materials and preparations containing *Ampelopsis cantoniensis* (Chè dây). The results showed that the samples were ultrasonically extracted twice with methanol, and the extracts were diluted tenfold with 0.01 M phosphoric acid. A standard solution of DMY at a concentration of 100 µg/mL was prepared simultaneously. Chromatographic separation was carried out on a C18 column (150 × 4.6 mm, 5 µm). The gradient program consisted of acetonitrile (ACN) and 0.01 M phosphoric acid as the mobile phases: 0 – 5 min, 5% ACN; 5 – 15 min, 5 – 22% ACN; 15 – 25 min, 90% ACN; 25 – 30 min, 5% ACN, at a flow rate of 1.0 mL/min. The injection volume was 10 µL, and detection was performed at 292 nm. Validation results met the requirements stipulated in the ICH and AOAC guidelines. The study successfully developed a new and straightforward method for the quantification of DMY in *Ampelopsis cantoniensis* materials and their preparations, contributing to improved quality control of these herbal products.

Keywords: *Ampelopsis cantoniensis*, gradient, high performance liquid chromatography, dihydromyricetin, ampelopsin.

PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP HPLC ĐỊNH LƯỢNG DIHYDROMYRICETIN TRONG DƯỢC LIỆU CHÈ DÂY VÀ SẢN PHẨM CHỨA DƯỢC LIỆU NÀY

PHẠM THỊ MINH HẢI¹, ĐÀO THU HÀ¹, NGUYỄN THỊ TRÂM¹,
VŨ THỊ HUYỀN TRANG¹, VŨ VĂN TUẤN¹, ✉

¹Trường Đại học Đại Nam

✉ Tác giả liên hệ: tuanvv@dainam.edu.vn

Nhận bài ngày 03 tháng 3 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày 19 tháng 3 năm 2026

Abstract: Mục đích của nghiên cứu này nhằm phát triển một phương pháp mới, đơn giản và đặc hiệu để định lượng dihydromyricetin trong dược liệu chè dây và chế phẩm chứa dược liệu này. Tiến hành khảo sát bước sóng phát hiện, chương trình gradient; khảo sát điều kiện chiết và dung môi pha loãng khi xử lý mẫu. Thẩm định phương pháp theo hướng dẫn của ICH và AOAC. Kết quả cho thấy mẫu thử được chiết siêu âm 2 lần bằng methanol, pha loãng dịch chiết 10 lần bằng acid phosphoric 0,01 M. Dung dịch chuẩn nồng độ 100 µg/mL được chuẩn bị đồng thời. Phân tích sắc ký với cột C18 (150 x 4,6 mm; 5µm). Chương trình gradient gồm acetonitril (ACN) và acid phosphoric 0,01 M: 0 – 5 phút, 5 % ACN; 5 – 15 phút, 5 – 22 % ACN; 15 – 25 phút, 90 % ACN; 25 – 30 phút, 5 % ACN. Tốc độ 1,0 mL/phút. Thể tích tiêm 10 µL. Phát hiện ở bước sóng 292 nm. Kết quả thẩm định đáp ứng các yêu cầu theo hướng dẫn của ICH và AOAC. Nghiên cứu đã phát triển một phương pháp mới, đơn giản để định lượng DMY trong dược liệu và các chế phẩm chứa Chè dây, góp phần kiểm soát chất lượng các chế phẩm này.

Từ khóa: Chè dây, gradient, sắc ký lỏng hiệu năng cao, dihydromyricetin, ampelopsin

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xu hướng sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên trong chăm sóc sức khỏe ngày càng phổ biến. Trong đó có Chè dây, một dược liệu được sử dụng phổ biến để điều trị các bệnh về dạ dày, ngoài ra dược liệu này còn thể hiện một số tác dụng điều trị như: viêm da, chống oxy hóa, giải độc rượu [1, 2, 3]. Ngày nay, để tiện dụng cho người bệnh, thay vì sử dụng trực tiếp dược liệu, các dạng thuốc hiện đại như viên nén, viên nang, cốm hoặc gel chứa Chè dây đã được phát triển và lưu hành trên thị trường [4, 5]. Để đảm bảo tác dụng và hiệu quả điều trị của dược liệu và các chế phẩm chứa Chè dây, việc kiểm soát và đảm bảo chất lượng là rất cần thiết, đặc biệt là định lượng hoạt chất. Trong đó, dihydromyricetin (DMY) là một trong những hoạt chất chính (chiếm 53,83% tổng số flavonoid) và là marker để kiểm soát dược liệu này [1, 6].

Đến nay, Dược điển Việt Nam mới chỉ có chuyên luận cho dược liệu và cao Chè dây, mà chưa có chuyên luận cho dạng bào chế, đặc biệt là các chế phẩm chứa đồng thời nhiều dược liệu hoặc kết hợp cùng hoạt chất khác. Bên cạnh đó, phương pháp của Dược điển Việt Nam V, để định lượng dược liệu sử dụng quy trình xử lý mẫu phức tạp. Ngoài ra, theo Dược điển Việt Nam, nồng độ chuẩn sử dụng trong phương pháp lên đến 2 mg/mL và bước sóng phát hiện ở 260 nm cho tín hiệu kém nhạy với DMY do gần với cực tiểu hấp thụ [6, 7]. Do các hạn chế này, nghiên cứu được thực hiện với mục đích phát triển một phương pháp định lượng mới, cho phép phát hiện DMY ở nồng độ thấp, với quy trình xử lý mẫu đơn giản và khả năng áp dụng trên các nền mẫu phức tạp chứa dược liệu và các chế phẩm có Chè dây.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Nguyên liệu: Dược liệu Chè dây (*Ampelopsis cantoniensis* (Hook. Et Arn.) Planch.) được cung cấp bởi công ty cổ phần dược liệu Indochina (xóm 8, xã Hương Sơn, thành phố Hà Nội, Việt Nam). Chuẩn dihydromyricetin hàm lượng 98,5% (số lô: CFS202402) được cung cấp bởi Wuhan ChemFaces Biochemical Co., Ltd. (Trung Quốc). Các sản phẩm chứa Chè dây được mua ngẫu nhiên tại các nhà thuốc đạt tiêu chuẩn GPP trên địa bàn Hà Nội. Chế phẩm là viên nén bao phim Dạ dày zentac (Sunwin, lô 151124, sản xuất ngày 21/11/2024) được mua ngẫu nhiên tại các nhà thuốc đạt tiêu chuẩn GPP trên địa bàn Hà Nội. Các dung môi sắc ký được cung cấp bởi Merck, các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

Thiết bị và dụng cụ: Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao JASCO LC4000 (Nhật Bản). Cân phân tích Sartorius 1523-S (Đức) chính xác đến 0,1 mg. Bể siêu âm Scilab Digi-10H (Hàn Quốc). Các bình định mức, pipet và dụng cụ chính xác phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp định lượng DMY bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao

Điều kiện sắc ký ban đầu của phương pháp dựa trên chuyên luận dược liệu Chè dây (Dược điển Việt Nam V) và thực hiện các khảo sát để lựa chọn điều kiện thích hợp [6].

Dung dịch thử: Lượng chính xác dược liệu hoặc chế phẩm tương đương với 1,0 g dược liệu Chè dây được chiết bằng vừa đủ 100,0 mL methanol (*khảo sát số lần chiết*). Pha loãng bằng dung môi thích hợp (*khảo sát dung môi pha loãng*) đến khoảng nồng độ định lượng (100 µg/mL), lọc qua màng 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan DMY chuẩn trong methanol để được dung dịch chuẩn gốc 2 mg/mL, pha loãng bằng methanol thành dung dịch chuẩn 100 µg/mL.

Điều kiện sắc ký: Cột sắc ký pha đảo Kinetex® EVO C18 (150 x 4,6 mm; 5µm). Pha động gồm hỗn hợp acetonitril (ACN) và acid phosphoric 0,01 M với chương trình dung môi gradient (*khảo sát chương trình gradient*); Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút. Thể tích tiêm: 10 µL. Đầu dò dây diod, *khảo sát bước sóng phát hiện*.

Hàm lượng DMY trong dược liệu khô kiệt (HL) được tính theo công thức:

$$HL = \frac{100 \cdot S_T \cdot C_C \cdot k}{S_C \cdot m_T \cdot (1 - H)} \cdot 100 \quad (\%)$$

Trong đó: S_T và S_C là diện tích pic DMY trên sắc ký đồ dung dịch thử, chuẩn (mAU.s). C_C là nồng độ dung dịch chuẩn (µg/mL). k là hệ số pha loãng của dung dịch thử (lần). m_T là khối lượng mẫu thử dùng cho phép định lượng (mg). H là hàm ẩm của mẫu dược liệu.

2.2.2. Phát triển phương pháp

Các thí nghiệm lựa chọn quá trình chiết và điều kiện sắc ký được đánh giá dựa trên các tiêu chí về diện tích pic, độ phân giải và hình dáng pic. Phương pháp cuối cùng sau khi lựa chọn điều kiện phù hợp được tiến hành thẩm định đầy đủ theo hướng dẫn của ICH/AOAC.

a. Khảo sát điều kiện sắc ký

Các thí nghiệm được thiết kế để lựa chọn bước sóng phân tích, tỉ lệ ban đầu của chương trình dung môi gradient, tốc độ thay đổi dung môi pha động để đảm bảo tách riêng pic DMY và các pic lân cận. Quét phổ của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn để xác định các cực đại hấp thụ làm bước sóng phân tích. Khảo sát tỉ lệ dung môi ban đầu với các nồng độ dung môi hữu cơ thấp (5 đến 15% ACN). Các tỉ lệ 25, 30, 35% ACN được cài đặt cho khảo sát tốc độ thay đổi pha động từ thời điểm 5 đến 20 phút.

b. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

1,00 g bột dược liệu được chiết bằng 100 mL methanol theo phương pháp chiết rắn lỏng có hỗ trợ siêu âm với công suất 40 kHz trong thời gian 30 phút/lần. Khảo sát 3 phương pháp: (1) chiết với 100 mL dung môi 1 lần; (2) chiết với 100 mL dung môi chia 2 lần, mỗi lần 50 mL dung môi; (3) chiết với 100 mL dung môi chia 3 lần, mỗi lần khoảng 33 mL dung môi. Dịch chiết được gạn vào bình định mức 100 mL tương ứng, thêm dung môi đến vừa đủ, lắc đều. Pha loãng 10 lần bằng methanol, lọc qua màng 0,45 µm. Tiến hành sắc ký các dung dịch thử ở trên theo điều kiện sắc ký đã lựa chọn. Mỗi cách xử lý mẫu được lặp lại 3 lần, lựa chọn cách xử lý mẫu cho diện tích pic cao nhất và tốn ít thời gian nhất. Để lựa chọn dung môi pha loãng, so sánh các thông số sắc ký khi pha loãng bằng methanol hoặc acid phosphoric 0,01 M.

2.2.4. Thẩm định phương pháp phân tích

Phương pháp định lượng DMY trong dược liệu và chế phẩm chứa Chè dây được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [8] các giới hạn chấp nhận tham khảo hướng dẫn của AOAC [9]. Do việc chiết DMY từ dược liệu khó khăn hơn so với hòa tan từ chế phẩm, việc thẩm định phương pháp định lượng được thực hiện trên nền mẫu dược liệu. Các chỉ tiêu thẩm định gồm: tính thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu, đường chuẩn và khoảng tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

2.2.5. Phương pháp xử lý dữ liệu

Các dữ liệu thực nghiệm được lưu trữ và tính toán trên microsoft excel. Các giá trị được trình bày thống kê ở dạng trung bình (TB) ± độ lệch chuẩn (SD), các so sánh thống kê được thực hiện trên SPSS 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

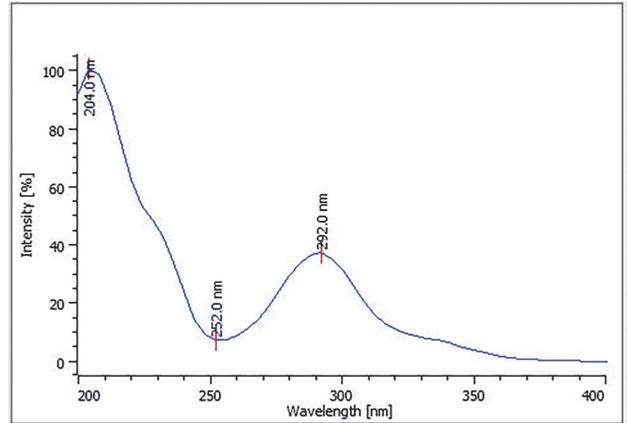
3.1. Kết quả phát triển phương pháp định lượng

3.1.1. Kết quả khảo sát điều kiện sắc ký

a. Khảo sát bước sóng phân tích

Trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn, xác định phổ tử ngoại của pic chính tại đỉnh pic, ghi lại hình ảnh phổ và các bước sóng có độ hấp thụ cực đại. Kết quả thể hiện trong hình 1.

Kết quả hình 1 cho thấy: Phổ hấp thụ tử ngoại của DMY có 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 204 nm và 292 nm. Mặc dù đỉnh 292 nm có độ hấp thụ thấp hơn nhưng đặc hiệu hơn (tránh bị nhiễu bởi các dung môi sắc ký thường hấp thụ mạnh vùng 204 nm). Để đảm bảo độ nhạy và đặc hiệu, bước sóng phát hiện được lựa chọn ở 292 nm.



Hình 1. Phổ hấp thụ tử ngoại của DMY

b. Khảo sát tỉ lệ ban đầu của chương trình dung môi gradient

Dung dịch thử từ mẫu dược liệu được phân tích bằng các chương trình pha động đẳng dòng với tỉ lệ acetonitril tăng dần từ 5 đến 15%. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Thay đổi của thời gian lưu DMY và tạp theo tỉ lệ ACN

Tỉ lệ ACN (%)	Thời gian lưu của DMY (phút)	Thời gian lưu của tạp không định danh (phút)
5	19,899 ± 0,219	2,793 ± 0,023
10	8,047 ± 0,028	2,147 ± 0,025
15	4,072 ± 0,022	1,880 ± 0,040

Kết quả bảng 1 cho thấy: Khi tăng tỉ lệ ACN thì thời gian lưu của các chất không lưu giữ thay đổi không đáng kể trong khoảng 1,880 đến 2,793 phút, các giá trị này đều dưới 3 phút. Ngược lại, thời gian lưu của DMY giảm mạnh khi tăng tỉ lệ ACN cho thấy khả năng lưu giữ của cột giảm dần khi tăng nồng độ ACN trong pha động. Để đảm bảo khả năng lưu giữ chất phân tích tốt nhất, tỉ lệ ACN trong pha động khởi đầu được lựa chọn là 5%.

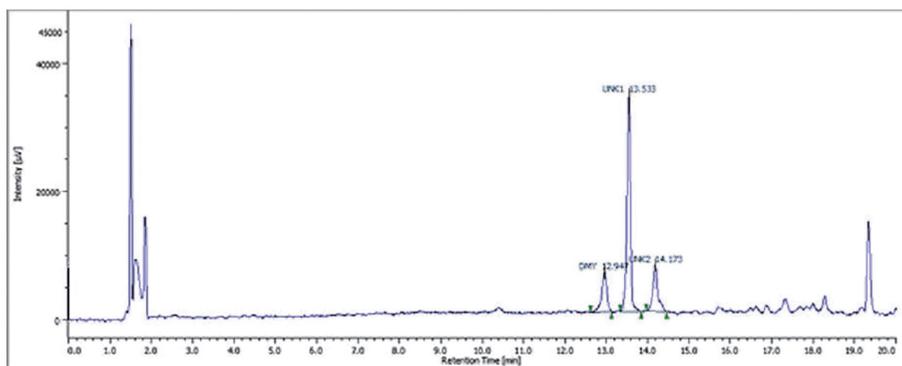
c. Khảo sát giai đoạn rửa giải DMY của chương trình dung môi gradient

Tiến hành sắc ký các dung dịch thử khác nhau, gồm cả dược liệu và chế phẩm, sử dụng dung dịch thử của chế phẩm (có đặc điểm phức tạp nhất) để khảo sát giai đoạn rửa giải DMY của chương trình dung môi. Tiến hành sắc ký với chương trình pha động có điều kiện ban đầu ACN : acid phosphoric 0,01 M (5 : 95), duy trì đẳng dòng trong 5 phút, sau đó tăng tỉ lệ ACN lên 25, 30, 35% trong 15 phút tiếp theo. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Các thông số sắc ký khi thay đổi gradient pha động

Tỉ lệ ACN ở thời điểm 20 phút (%)	Thời gian lưu (phút)	Số đĩa lý thuyết	Độ phân giải	Hệ số đối xứng
25	13,603	73248	4,082	1,138
30	12,947	60894	3,321	0,807
35	12,307	12479	1,783	0,812

Kết quả bảng 2 cho thấy: Khi tỉ lệ ACN trong chương trình gradient tăng càng nhanh thì thời gian lưu của pic DMY càng giảm. Hệ số đối xứng đều nằm trong giới hạn 0,8 đến 1,2 và số đĩa lý thuyết đảm bảo hiệu lực tách của cột với giá trị trên 2000. Tuy nhiên, khi tăng tỉ lệ ACN thì độ phân giải giảm dần, Với tỉ lệ 35% thì độ phân giải của pic DMY so với pic liền sau (UNK1) dưới 2,0. Do đó, giai đoạn rửa giải DMY được xác định với chương trình dung môi có tỉ lệ ACN tăng từ 5 lên 30% trong 15 phút. Sắc ký đồ dung dịch thử thu được khi tiến hành theo chương trình đã lựa chọn được thể hiện trong hình 2.



Hình 2. Sắc ký đồ dung dịch thử khi tăng tỉ lệ ACN lên 30%

Trên hình 2 cho thấy: Thời gian lưu của pic DMY khoảng 13 phút. Để tiết kiệm thời gian phân tích, chương trình gradient sẽ được dừng ở thời điểm 15 phút, tương ứng với tỉ lệ ACN 22% và chuyển sang giai đoạn rửa cột và cân bằng để sẵn sàng cho lần phân tích tiếp theo. Chương trình dung môi gradient đầy đủ được đề xuất: 0 – 5 phút, 5% ACN; 5 – 15 phút, 5-22% ACN; 15 – 25 phút, 90% ACN; 25 – 30 phút, 5% ACN.

3.1.2. Kết quả khảo sát điều kiện xử lý mẫu

a. Khảo sát điều kiện chiết

Thay đổi phương pháp xử lý mẫu từ chiết Soxhlet sang chiết rắn lỏng có hỗ trợ siêu âm, so sánh ảnh hưởng của số lần chiết và tỉ lệ dung môi. Hàm lượng DMY xác định được theo 3 cách khác nhau được tổng hợp trong bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng DMY xác định được khi xử lý theo 3 cách khác nhau

Cách	Khối lượng (g)	Diện tích pic (mAU.s)	HL (%)	TB ± SD (%)
(1)	1,0159	8448815	19,12	19,34 ± 0,24
	1,0106	8614591	19,60	
	1,0064	8443993	19,29	
(2)	1,0005	9820480	22,57	22,38 ± 0,41
	1,0076	9929844	22,66	
	1,0039	9566167	21,91	
(3)	1,0088	8919020	20,33	21,06 ± 0,77
	1,0046	9178631	21,01	
	1,0028	9535476	21,86	

Kết quả bảng 3 cho thấy: Khi chiết 2 lần, mỗi lần 50 mL methanol cho hiệu suất cao nhất (hàm lượng xác định được cao nhất) và thời gian xử lý mẫu là phù hợp. Do vậy, điều kiện xử lý mẫu được lựa chọn gồm chiết mẫu thứ 2 lần, mỗi lần dùng 50 mL methanol.

b. Khảo sát dung môi pha loãng

Dung dịch DMY chuẩn 1000 µg/mL trong methanol được pha loãng 10 lần bằng methanol hoặc acid phosphoric 0,01 M, lọc dịch sau pha loãng qua màng 0,45 µm và tiến hành sắc ký 2 dung dịch này theo điều kiện đã xác định, mỗi dung dịch lặp lại 6 lần. So sánh các thông số sắc ký của pic DMY khi pha loãng theo 2 cách khác nhau. Kết quả được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Thông số pic sắc ký khi phân tích với dung môi pha loãng khác nhau

Dung môi pha loãng	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (µAU.s)	Số đĩa lý thuyết	Hệ số đối xứng
Acid phosphoric 0,01 M	12,93 ± 0,02	4855731 ± 58938	85703 ± 835	1,023 ± 0,007
Methanol	12,94 ± 0,06	4715122 ± 68301	14659 ± 196	0,776 ± 0,015
<i>p-value*</i>	0,088	0,325	0,061	0,036

(* so sánh trung bình hai mẫu độc lập bằng t-test)

Kết quả cho thấy: Việc pha loãng bằng 2 dung môi khác nhau cho cùng thời gian lưu, diện tích pic và số đĩa lý thuyết (khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$); tuy nhiên, hình dạng pic có sự khác biệt rõ ràng ($p < 0,05$). Khi pha loãng bằng acid phosphoric 0,01 M cho pic đối xứng hơn (hệ số đối xứng gần 1 hơn). Do đó, acid phosphoric 0,01 M được sử dụng làm dung môi pha loãng trong phương pháp.

Điều kiện xử lý mẫu và sắc ký được tổng hợp như sau:

Dung dịch thử: Lấy chính xác lượng bột dược liệu (nghiền thô) hoặc lượng chế phẩm tương đương với 1,0 g dược liệu Chè dây vào bình nón nút mài. Thêm 50 mL methanol và siêu âm 30 phút, gạn cẩn thận toàn bộ phần methanol vào bình định mức 100mL. Thêm tiếp 50 mL methanol vào bình nón và chiết lần 2. Gộp chung dịch chiết trong bình định mức, để nguội và thêm dung môi đến vừa đủ 100,0 mL, lắc đều. Pha loãng 1,0 mL dịch chiết bằng acid phosphoric 0,01 M đến vừa đủ 10,0

mL. Lọc qua màng 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: 10 mg chuẩn DMY được hòa tan trong vừa đủ 10,0 mL methanol. Pha loãng 1,0 mL dung dịch trên thành vừa đủ 10,0 mL bằng acid phosphoric 0,01 M. Lọc qua màng 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký: Cột sắc ký pha đảo Kinetex® EVO C18 (150 x 4,6 mm; 5µm). Pha động: Chương trình gradient với hỗn hợp dung môi acetonitril (ACN) và acid phosphoric 0,01 M như sau: 0 – 5 phút, 5% ACN; 5 – 15 phút, 5 – 22% ACN; 15 – 25 phút, 90% ACN; 25 – 30 phút, 5% ACN. Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút. Thể tích tiêm: 10 µL. Detector dây diod, phát hiện ở bước sóng 292 nm.

3.2. Kết quả thẩm định phương pháp

3.2.1. Tính thích hợp hệ thống

Chuẩn bị dung dịch chuẩn DMY nồng độ 100 µg/mL, tiến hành sắc ký lặp lại 06 lần dung dịch này theo phương pháp đã xây dựng. Kết quả thể hiện trong bảng 5.

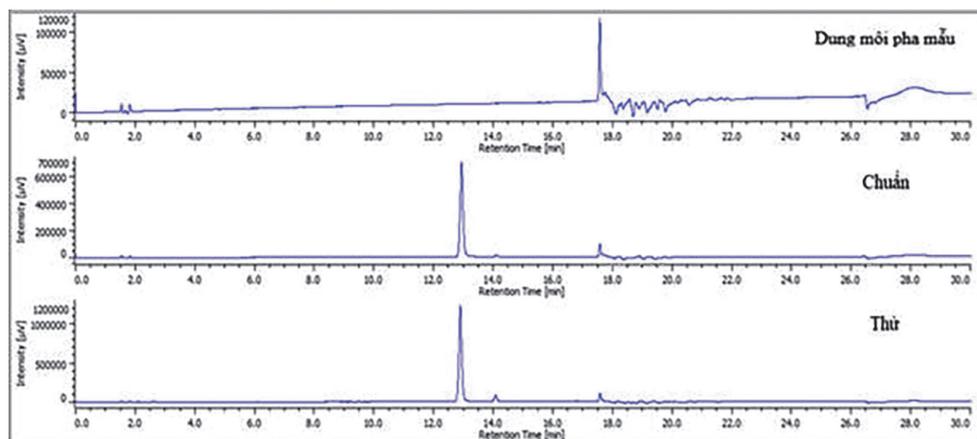
Bảng 5. Kết quả thẩm định tính thích hợp hệ thống

TT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (µAU.s)	Số đĩa lý thuyết	Hệ số đối xứng
TB ± SD	12,93 ± 0,02	4855731 ± 58938	85703 ± 835	1,023 ± 0,007
RSD (%)	0,16	1,21	0,97	0,66

Độ lặp lại các thông số sắc ký đáp ứng yêu cầu với RSD không quá 2%. Hệ thống sắc ký thích hợp để định lượng DMY.

3.2.2. Độ đặc hiệu

Chuẩn bị dung dịch thử, dung dịch chuẩn DMY và dung môi pha mẫu (1,0 mL methanol trong vừa đủ 10,0 mL acid phosphoric 0,01M). Tiến hành sắc ký các dung dịch này theo phương pháp đã xây dựng. Kết quả thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Sắc ký đồ dung môi pha mẫu, dung dịch chuẩn và thử

Sắc ký đồ dung dịch thử xuất hiện pic DMY có cùng thời gian lưu (khoảng 13 phút), cùng hình dạng phổ tử ngoại so với pic DMY trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn. Với sắc ký đồ tiêm dung môi pha mẫu, không ghi nhận pic xung quanh thời gian lưu của DMY. Đồng thời, phổ tử ngoại của pic thử và pic chuẩn có số lượng và vị trí các cực đại hấp thụ giống nhau. Do đó, phương pháp đảm bảo

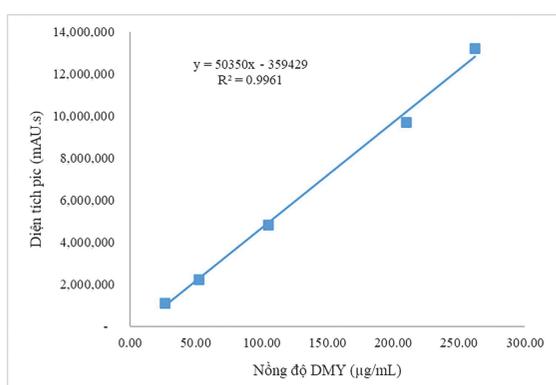
độ đặc hiệu để phân biệt DMY và các thành phần khác trong mẫu.

3.2.3. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn nồng độ 26,18 đến 261,85 $\mu\text{g/mL}$. Phân tích theo chương trình sắc ký đã xây dựng. Kết quả được minh họa trong bảng 6 và hình 4.

Bảng 6. Kết quả xây dựng đường chuẩn

Nồng độ DMY ($\mu\text{g/mL}$)	26,18	52,37	104,74	209,48	261,85
Diện tích pic (mAU.s)	1132845	2241248	4858355	9716710	13213261



Hình 4. Đường chuẩn biểu diễn sự phụ thuộc diện tích pic theo nồng độ DMY

Trong khoảng khảo sát có sự phụ thuộc tuyến tính chặt chẽ của diện tích pic và nồng độ DMY theo phương trình $y = 50350x - 359429$ với bình phương hệ số tương quan đạt 0,9961 ($> 0,99$). Sai số nồng độ tính theo đường chuẩn đều nằm trong khoảng $\pm 15\%$. Các kết quả này đáp ứng các giới hạn của AOAC, do đó, phương pháp đáp ứng yêu cầu để định lượng DMY trong khoảng 26,18 đến 261,85 $\mu\text{g/mL}$.

3.2.4. Độ đúng

Các mẫu thử thêm chuẩn được tạo ra bằng cách thêm dung dịch chuẩn 1047 $\mu\text{g/mL}$ vào mẫu thử (bột dược liệu). Mẫu tương ứng 50% gồm 0,25 g mẫu thử và 25 μL dung dịch chuẩn; Mẫu tương ứng 100% gồm 0,5 g mẫu thử và 50 μL dung dịch chuẩn; Mẫu tương ứng 150% gồm 1,0 g mẫu thử và 50 μL dung dịch chuẩn). Phân tích các mẫu tự tạo song song với mẫu thử và dung dịch chuẩn. Kết quả được tổng hợp trong bảng 7.

Kết quả cho thấy, độ thu hồi DMY từ các mẫu tự tạo đạt 98,59 đến 101,90% nằm trong giới hạn của AOAC với mẫu có hàm lượng từ 1 – 10% (phải nằm trong khoảng 92 – 105%). RSD của độ thu hồi tại các nồng độ từ 0,70 đến 1,48%, không có giá trị nào vượt 2%. Vậy, độ đúng của phương pháp xây dựng đảm bảo yêu cầu.

Bảng 7. Độ thu hồi từ các mẫu thử thêm chuẩn

Mẫu	Khối lượng (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Lượng đã thêm (mg)	Lượng tìm lại (mg)	Độ thu hồi (%)	RSD (%)
	251,1	2179899	26,18	25,81	98,59	1,48
50%	264,3	2192881	26,18	26,09	99,66	
	254,8	2215358	26,18	26,57	101,52	
	503,5	4415861	52,35	52,83	100,90	0,70
100%	501,7	4406851	52,35	52,63	100,53	
	503,4	4440122	52,35	53,35	101,90	
	1030,5	6349530	52,35	52,02	99,37	1,22
150%	1038,3	6388751	52,35	52,87	100,99	
	1013,2	6408098	52,35	53,29	101,78	
Thử	1012,1	3941769				
Chuẩn	10,63	4846209				

3.2.5. Độ lặp lại

Định lượng mẫu thử dược liệu, làm 6 mẫu song song, kết quả thể hiện trong bảng 8.

Bảng 8. Kết quả thẩm định độ lặp lại

TT	Khối lượng (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Hàm ẩ (%)	HL (%)	TB ± SD (%)
1	1005,1	3861243	6,01	8,83	8,95 ± 0,13 RSD = 1,42%
2	1016,8	3914924		8,85	
3	1002,4	3999673		9,17	
4	1018,4	3938182		8,89	
5	1013,2	3954467		8,97	
6	1016,2	3982127		9,01	
Chuẩn	10,63	4846209			

Hàm lượng DMY trong dược liệu đạt $8,95 \pm 0,13\%$ tính theo khối lượng khô kiệt. RSD của hàm lượng đạt 1,42%, nằm trong giới hạn cho phép của phụ lục K, AOAC (đối với mẫu có hàm lượng từ 1 – 10%, RSD không quá 2%). Do đó, phương pháp đã xây dựng đảm bảo độ lặp lại.

3.2.6. Xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Pha loãng dung dịch thử nhiều lần bằng acid phosphoric 0,01 M. Phân tích bằng phương pháp đã xây dựng để tìm giới hạn phát hiện (LOD) nồng độ có tỉ lệ tín hiệu so với nhiễu (S/N) khoảng 3. Giới hạn định lượng được ước tính theo LOD, khi tỉ lệ S/N = 10. Kết quả được thể hiện trong bảng 9.

Với giả sử trong khoảng nồng độ nhỏ, tỉ lệ S/N tỉ lệ với nồng độ DMY. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp được xác định lần lượt là 0,04 và 0,14 $\mu\text{g/mL}$.

Bảng 9. Tín hiệu và nhiễu ở nồng độ 0,05 $\mu\text{g/mL}$

TT	Chiều cao tín hiệu (S)	Chiều cao nhiễu (h = 2N)	Tỉ lệ (S/N)
1	525	281	3,74
2	543	265	4,10
3	424	308	2,75
4	513	297	3,45
Trung bình			3,51

4. BÀN LUẬN

Phương pháp có bước sóng phát hiện ở 292 nm nhạy hơn so với ở 260 nm, kết quả này phù hợp với công bố của Zhou F.Z. (2021) và các tác giả khác [7, 10, 11]. Chương trình gradient cho phép tách riêng pic DMY và các pic tạp cho phép áp dụng được định lượng cả dược liệu và chế phẩm. Quy trình chiết sử dụng hỗ trợ siêu âm giúp cho việc đơn giản hóa hơn giai đoạn xử lý mẫu so với Dược điển Việt Nam. Một số các tác giả cũng sử dụng phương pháp chiết siêu âm tương tự [7, 11]. Ngoài ra, việc thay đổi

dung môi pha loãng giúp cải thiện hình dạng pic hẹp hơn, đối xứng hơn đáng kể, do đó hạn chế rủi ro các pic không được tách rõ ràng trên các nền mẫu phức tạp. Phương pháp được thẩm định các tiêu chí theo hướng dẫn của ICH về phương pháp phân tích không hệ thống, các kết quả đáp ứng giới hạn của AOAC. Như vậy, nghiên cứu này đã góp phần cung cấp một phương pháp đơn giản và hiệu quả là công cụ quan trọng góp phần kiểm soát chất lượng dược liệu và sản phẩm chăm sóc sức khỏe chứa Chè dây.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phát triển được một phương pháp định lượng mới, với quy trình xử lý mẫu đơn giản bằng chiết hỗ trợ siêu âm và cho phép phát hiện DMY từ nồng độ thấp. Phương pháp có khả năng áp dụng trên các nền mẫu phức tạp như dược liệu và các chế phẩm chứa Chè dây.

Tuyên bố về xung đột lợi ích tiềm ẩn

Các tác giả không có xung đột về lợi ích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Viện Dược Liệu (2004). Những cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội. 423-425.
- [2] Nguyễn Quỳnh Chi, Nguyễn Thu Hằng, Đỗ Quyên và cộng sự (2025). Chè dây: Nghiên cứu phát triển sản phẩm dược liệu từ tri thức bản địa. Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin Thuốc, 26.
- [3] He C., Chen Y., Xie J., et al. (2025). Dihydromyricetin: An emerging compound with comprehensive effects on multiple systems. *Frontiers in Pharmacology*, 15: 1488003.
- [4] Zhang R., Zhang H., Shi H., et al. (2022). Strategic developments in the drug delivery of natural product dihydromyricetin: Applications, prospects, and challenges. *Drug Delivery*, 29(1): 3052-3070.
- [5] Zhang Y., Wang T., Wu S., et al. (2025). Vine tea (*Ampelopsis grossedentata*)-A different kind of tea hidden deep in the mountains of China: A comprehensive review of the nutritional profile, functional effect, and diverse applications as a novel raw material in food practices. *Trends in Food Science & Technology*, 159: 104939.
- [6] Bộ Y Tế (2017). Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 1107-1108.
- [7] Zhou F.Z., Zhou Z., Zhang X.Y., et al. (2021). Clustering analysis of *Ampelopsis grossedentata* based the contents of dihydromyricetin and myricetin. *International Journal of Food Science and Nutrition* 6(5): 19-23.
- [8] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) (2025). ICH Q2(R2)/Q14 - Analytical Procedure Development and Validation, ICH, Geneva.
- [9] AOAC INTERNATIONAL (2013). Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC, Rockville.
- [10] Liu D., Mao Y., Ding L., et al. (2019). Dihydromyricetin: A review on identification and quantification methods, biological activities, chemical stability, metabolism and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*, 91: 586-597.
- [11] Jin M.Y., Ding Y., Zhang T., et al. (2014). Simultaneous determination of dihydromyricetin and resveratrol in *Ampelopsis sinica* (Miq.) WT Wang by high-performance liquid chromatography coupled with a diode array detection method. *Journal of chromatographic science*, 52(4): 339-343.

DEVELOPMENT AND VALIDATION A LC-MS/MS METHOD FOR QUANTITATION OF PAROXETINE IN HUMAN PLASMA

TRAN HOANG¹, CAO NGOC CUONG¹, NGUYEN THI CHAM¹, TRAN PHUC CHIEU¹,
NGUYEN LAM HONG², DO MINH HIEN², HOANG VAN DUC^{1,✉}

¹National Institute of Drug Quality Control

²Hanoi university of pharmacy

✉Corresponding author: hoangducckh@gmail.com

Received January 12th, 2026; Accepted March 3rd, 2026

Abstract: A fast, simple, high throughput and specific method using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry was developed for quantitation of paroxetine in human