

ESTABLISHING A REFERENCE STANDARD OF PAEONIFLORIN ISOLATED FROM *RADIX PAEONIAE LACTIFLORAE*

NGUYEN LAM HONG^{1,✉}, PHAM THU TRANG²

¹Faculty of Analytical Chemistry and Drug Quality Control, Hanoi University of Pharmacy

²Laboratory for Establishment of Reference Substances, National Institute of Drug Quality Control

✉ Corresponding author: hongnl@hup.edu.vn

Received August 8th, 2025

Accepted September 8th, 2025

Abstract: In China and Viet Nam, *Radix Paeoniae lactiflorae* is a medicinal herb commonly used in traditional medicine. Nowadays, *Radix Paeoniae lactiflorae* has also been studied in modern medicine. In the *Radix Paeoniae lactiflorae* monograph of the Vietnam Pharmacopoeia V, its paeoniflorin content quantified by HPLC/DAD, is specified to be not less than 1.6%. For the quality control of *Radix Paeoniae lactiflorae*, the establishment of paeoniflorin as an affordable-price reference standard is a prerequisite in Vietnam. In this study, 3.2 g of paeoniflorin was isolated and purified from 1.5 kg of *Radix Paeoniae lactiflorae*. The purified substance, whose structure was confirmed as paeoniflorin by ¹H, ¹³C-NMR, HR-MS, IR, was established as a reference standard in the Laboratory for Establishment of Reference Substances, National Institute of Drug Quality Control, and packaged in 10-mg standard tubes. The content of astragaloside IV in our purified samples was determined to be 91.5% by HPLC/DAD analysis, with an expanded measurement uncertainty $U = \pm 0.31\%$.

Keywords: paeoniflorin, *Radix Paeoniae lactiflorae*, isolation, reference standard.

THIẾT LẬP CHUẨN PAEONIFLORIN PHÂN LẬP TỪ DƯỢC LIỆU BẠCH THƯỢC

NGUYỄN LÂM HỒNG^{1,✉}, PHẠM THU TRANG²

¹Khoa Hóa Phân tích và Kiểm nghiệm thuốc, Trường Đại học Dược Hà Nội

²Khoa thiết lập chất chuẩn chất đối chiếu, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

✉ Tác giả liên hệ: hongnl@hup.edu.vn

Nhận bài ngày 08 tháng 08 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 08 tháng 09 năm 2025

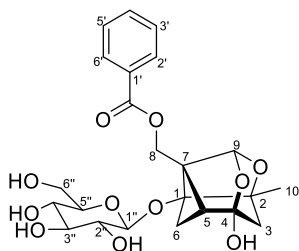
Tóm tắt: Ở Trung Quốc và Việt Nam, Bạch thược là một dược liệu được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền, ngày nay có nhiều nghiên cứu tác dụng Bạch thược trong y học hiện đại. Trong chuyên luận Bạch thược của Dược điển Việt Nam V, hàm lượng paeoniflorin được định lượng bằng HPLC/DAD không được nhỏ hơn 1,6%. Để kiểm tra chất lượng Bạch thược cần có chất chuẩn được thiết lập ở Việt Nam với giá thành hợp lý. Nghiên cứu này đã phân lập và tinh chế được 3,2 g chất sạch từ 1,5 kg Bạch thược. Chất tinh chế đã được khẳng định là paeoniflorin bằng phổ ¹H, ¹³C-NMR, HR-MS, IR. Chất chuẩn đã được thiết lập tại Khoa Thiết lập chất chuẩn - chất đối chiếu, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, đóng ống chuẩn paeoniflorin 10 mg và xác định giá trị ấn định ghi trên nhãn 91,5% bằng HPLC/DAD với độ không đảm bảo đo mở rộng $U = \pm 0,31\%$.

Từ khóa: paeoniflorin, *Radix Paeoniae lactiflorae*, Bạch thược, phân lập, chất chuẩn

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*) được sử dụng rất phổ biến trong đông y, điều trị các chứng sau: đau lưng, đau bụng, trướng bụng đầy hơi, tiêu chảy, hen suyễn, chữa các chứng bệnh phụ nữ trước và sau sinh... [1]. Ngày nay, có nhiều nghiên cứu về Bạch thược trong điều trị y học hiện đại, điển hình là tác dụng chống viêm và chống khối u. Các thành phần hóa học có tác dụng chống viêm chủ yếu là paeoniflorin và paeonol. Trong đó paeoniflorin điều chỉnh giảm nồng độ matrixmetallo proteinase-2 (MMP-2), matrixmetallo proteinase-9 (MMP-9), iNOS và cyclooxygenase-2 (COX-2); ức chế con đường truyền tín hiệu -κB và quá trình chết theo chương trình; đồng thời thúc đẩy quá trình điều chỉnh lại các chất trung gian gây viêm như yếu tố hoại tử khối u-α (TNF-α), Interleukin 1β (IL-1β), iNOS, COX-2 và 5-lipoxygenase (5-LOX) và các chất kích hoạt của JNK và p38 MAPK, để bảo vệ khỏi tổn thương não do thiếu máu cục bộ [2].

Dược điển Việt Nam V (ĐDVN V) quy định về chỉ tiêu định tính bằng sắc ký lớp mỏng và xác định hàm lượng paeoniflorin bằng phương pháp HPLC/DAD với yêu cầu hàm lượng tối thiểu 1,6% [3].



Hình 1: Công thức cấu tạo của paeoniflorin

Việt Nam cho đến nay chưa có chuẩn paeoniflorin được thiết lập, nguồn chuẩn paeoniflorin mua từ nước ngoài với giá thành cao và thời gian vận chuyển khá lâu. Vì vậy, rất cần thiết lập chuẩn paeoniflorin tại Việt Nam phục vụ công tác kiểm tra, giám sát chất lượng dược liệu Bạch thược.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, hóa chất, chất chuẩn

2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị, dụng cụ đã được hiệu chuẩn theo quy định của GLP và ISO/IEC 17025 tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương: Máy HPLC/DAD (Hitachi), máy sắc ký lỏng khối phổ Sciex Qtrap 6500+ (Mỹ); máy cân hồng ngoại Nilolet iS50 NIR (Thermo); máy phân tích nhiệt trọng lực TGA (Mettler), cân kỹ thuật Mettler Toledo (d = 1 mg), cân phân tích Mettler Toledo (d = 0,1 mg); bản mỏng silica gel 60 F₂₅₄; Silica gel 60 (40 – 63 μm; 63 – 230 μm)

(Merck); bộ cắt quay chân không Buchi; cột thủy tinh, pipet chính xác và các dụng cụ thủy tinh cần thiết khác. Máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker 500 MHz và 600 MHz (Viện Hóa học).

2.1.2. Hóa chất, dung môi, chất chuẩn

Chất chuẩn: Chất chuẩn paeoniflorin (C₂₃H₂₈O₁₁), USP, lô F136N0 (hàm lượng 99,0% tính trên nguyên trạng)

Hóa chất: dicloromethan (CH₂Cl₂), chloroform (CHCl₃), methanol (MeOH), aceton, acid formic, ethanol, *n*-butanol, acid phosphoric, acid hydrochloric: đạt tinh khiết phân tích; acetonitril: đạt tinh khiết sắc ký.

2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu sử dụng là dược liệu Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*) mua từ Viện Dược liệu, Bộ Y tế.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Chiết xuất, phân lập và tinh chế

Dược liệu được chiết bằng siêu âm với dung môi ethanol 50%. Hòa cao toàn phần với nước, chiết lỏng – lỏng bằng *n*-butanol, cô quay chân không thu cao đặc *n*-butanol.

Cao đặc *n*-butanol được hòa tan trong methanol, sau đó được phân lập bằng phương pháp sắc ký cột pha thuận, rửa giải bằng hệ dung môi CH₂Cl₂ – MeOH với tỷ lệ được khảo sát bằng TLC.

Tinh chế paeoniflorin bằng sắc ký cột pha đảo nhờ silica gel pha đảo RP-18 (150 μm) (Cột 3 – RP1), rửa giải bằng hệ dung môi là methanol – nước được khảo sát qua TLC.

Khẳng định chất tinh chế được là paeoniflorin bằng các phương pháp đo phổ HR-MS, NMR, IR.

* Phương pháp xác định tổng tạp chất liên quan trong paeoniflorin bằng HPLC/DAD

Điều kiện sắc ký tham khảo ĐDVN V [3], sử dụng cột C18 (100 × 4,6 mm; 2,7 μm); nhiệt độ 30°C; pha động là hỗn hợp acid phosphoric 0,1% (A) - acetonitril (B) với gradient (0 phút: 87% A; 4 phút: 86% A; 7 phút: 84% A; 15 phút: 79% A; 25 phút: 36% A; 25,1 – 30 phút: 5% A; 30,1 – 35 phút: 87% A), tốc độ dòng: 0,7 mL/phút; thể tích tiêm: 10 μL và phát hiện chất bằng detector UV 230 nm.

Dung dịch thử: Dung dịch paeoniflorin có nồng độ 0,5 mg/mL trong hỗn hợp dung môi methanol – nước (1:1).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 mL dung dịch thử thành 100,0 mL với hỗn hợp dung môi methanol – nước (1:1).

Yêu cầu thích hợp hệ thống: Hệ số phân giải giữa pic paeoniflorin và pic rửa giải ngay sau nó không được ít hơn 1,5; Hệ số kéo đuôi của pic paeoniflorin không được lớn hơn 2,0.

Hàm lượng tổng tạp chất liên quan được xác định bằng phương pháp chuẩn hoá diện tích, với giới hạn tổng tạp chất liên quan không được lớn hơn 10,0%.

***Phương pháp xác định hàm lượng paeoniflorin**

- Điều kiện sắc ký, pha động giống mục xác định hàm lượng tổng tạp chất liên quan, sử dụng dung dịch thử và dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 0,1 mg/mL trong hỗn hợp dung môi methanol – nước (1 : 1).

- **Yêu cầu thích hợp hệ thống:** Hệ số kéo đuôi của pic paeoniflorin không được lớn hơn 1,5. Giá trị RSD (%) diện tích pic paeoniflorin ở các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được quá 1,0%.

- Tính hàm lượng paeoniflorin dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn và dung dịch thử, lượng cân mẫu chuẩn, mẫu thử và hàm lượng của paeoniflorin chuẩn.

***Xác định tạp chất dễ bay hơi**

Xác định tỷ lệ phần trăm các chất dễ bay hơi bằng phân tích nhiệt trọng lượng trên thiết bị đã được hiệu chuẩn thích hợp, sử dụng khoảng 3 mg mẫu, với chương trình gia nhiệt là 10°C/phút từ nhiệt độ môi trường đến 120°C, duy trì ở nhiệt độ 120°C liên tục 3 giờ, trong môi trường nitơ với tốc độ dòng 40 mL/phút. Từ biểu đồ nhiệt, xác định sự hao hụt khối lượng tích lũy giữa nhiệt độ môi trường xung quanh và một điểm trên mặt phẳng.

***Thiết lập chuẩn paeoniflorin**

- **Đóng lọ:**

Lượng mẫu nhất định được chia vào các lọ thủy tinh màu nâu trong môi trường khí trơ với độ ẩm tương đối tương đương với độ ẩm của chất sạch sau tinh chế được xác định bằng phương pháp TGA, sau đó đậy nút cao su và dập nắp nhôm.

- Xác định đồng nhất quá trình đóng lọ theo hướng dẫn ISO 35:2017.

Các mẫu được lấy ngẫu nhiên 10 đơn vị. Mỗi lọ được xác định hàm lượng (tính theo nguyên trạng) 02 lần bằng phương pháp HPLC với điều kiện sắc ký như mô tả trong phần xác định hàm lượng paeoniflorin; quy ước hàm lượng của 1 lọ là 100% và tính hàm lượng của các lọ còn lại dựa vào diện tích pic và hàm lượng của lọ đã quy ước. Đánh giá đồng nhất đóng lọ theo quy định của hướng dẫn ISO 35: 2017 [9] (Phân tích ANOVA một yếu tố).

- **Xác định giá trị ấn định của chất chuẩn paeoniflorin bằng phương pháp HPLC/DAD**

Điều kiện sắc ký, pha động tham khảo phương pháp xác định hàm lượng paeoniflorin với dung dịch thử và dung dịch chuẩn có nồng độ 0,1 mg/mL trong hỗn hợp dung môi methanol – nước (1:1).

Yêu cầu thích hợp hệ thống: Hệ số kéo đuôi của pic paeoniflorin không được lớn hơn 1,5. Giá trị RSD (%) diện tích pic paeoniflorin ở các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được quá 1,0%.

Tính hàm lượng paeoniflorin dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn và dung dịch thử, lượng cân mẫu chuẩn, mẫu thử và hàm lượng của paeoniflorin chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Chiết xuất, phân lập và tinh chế paeoniflorin

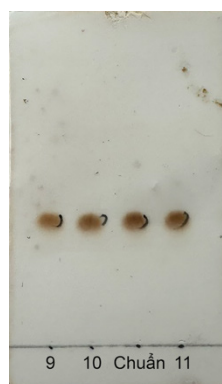
3.1.1. Chiết xuất

Tiến hành chiết 1,5 kg Bạch thược, thu được 63 g cao đặc ethanol. Phân tán vào nước, chiết lỏng – lỏng 3 lần, mỗi lần 500 mL *n*-butanol. Gộp dịch chiết, cô quay chân không thu được 31 g cao đặc *n*-butanol.

3.1.2. Phân lập và tinh chế paeoniflorin

*** Phân lập thô trên cột pha thuận:**

Lựa chọn điều kiện dung môi tách chất paeoniflorin, tham khảo ĐĐVN V, quy trình định tính Bạch thược bằng TLC [3], sử dụng bản mỏng silica gel G, kết quả ở hình 2(a) khảo sát hệ pha động CH₂Cl₂ - MeOH (93 : 7) để phân lập được paeoniflorin từ cao đặc *n*-butanol.



(a) Lựa chọn điều kiện phân lập: bằng bản mỏng silica gel và hệ pha động CH₂Cl₂ - MeOH (93 : 7)



(b) Lựa chọn điều kiện tinh chế: bằng bản mỏng pha đảo RP18 và hệ pha động MeOH - H₂O (20 : 80)

Hình 2: Sắc ký đồ TLC khảo sát điều kiện tách paeoniflorin trong dung dịch thử so với chất chuẩn

Tiến hành lần lượt tách chất paeoniflorin trên 2 cột sắc ký pha thuận như sau:

Cột 1: hoà tan 31 g cao đặc *n*-butanol trong 50 mL methanol đưa lên cột thủy tinh đường kính 8 cm (400 g silica gel, cỡ hạt 63 – 230 μm), rửa giải bằng hỗn hợp dung môi CH_2Cl_2 - MeOH (90 : 10). Gộp các lọ có paeoniflorin, cất thu hồi dung môi thu được cặn B (16 g).

Cột 2: hoà tan cặn B trong khoảng 20 mL methanol đưa lên cột thủy tinh đường kính 6 cm (180 g silica gel, cỡ hạt 40 – 63 μm), rửa giải bằng hỗn hợp dung môi CH_2Cl_2 - MeOH (93 : 7). Gộp các lọ có paeoniflorin cất thu hồi dung môi thu được cặn C (6 g).

* Tinh chế trên cột pha đảo:

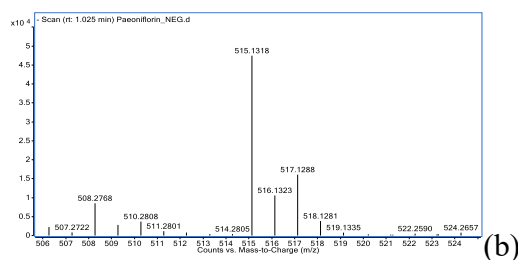
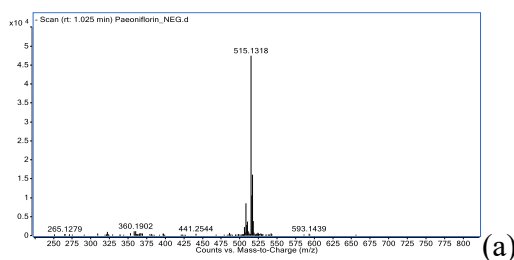
Lấy 6 g cặn C tiếp tục tiến hành tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột pha đảo nhồi silica gel pha đảo RP-18 (150 μm) (Cột 3 – RP1), rửa giải bằng hệ dung môi là methanol – nước (20 : 80) (hình 2b). Gộp các phân đoạn chứa paeoniflorin cất thu hồi dung môi đến cặn thu được 3,2 g nguyên liệu thiết lập chất chuẩn paeoniflorin.

3.2. Khẳng định cấu trúc và xác định độ tinh khiết của paeoniflorin sau tinh chế

3.2.1. Khẳng định cấu trúc của chất tinh chế được là paeoniflorin

Chất tinh chế thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, phổ HRESI-MS cho tín hiệu pic ở m/z 515,1318 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ (Tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{ClO}_{11}$

có m/z : 515,1320). Kết hợp phổ ^{13}C -NMR cho phép xác định chất tinh chế có công thức phân tử là $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$. Trên phổ ^1H -NMR của chất tinh chế thấy xuất hiện tín hiệu của các proton thơm đặc trưng của vòng phenyl ở δ_{H} 8,08 (2H, dd, $J = 1,8; 8,4$ Hz), 7,63 (1H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,51 (2H, t, $J = 7,8$ Hz). Tín hiệu singlet của 1 nhóm methyl ở δ_{H} 1,39 (3H, s). Tín hiệu của 1 proton anom của phân tử đường ở δ_{H} 4,55 (1H, d, $J = 6,0$ Hz). Ngoài ra còn có tín hiệu của các proton aliphatic ở δ_{H} 1,82-5,39 ppm. Trên phổ ^{13}C -DEPT thấy xuất hiện tín hiệu của 23 nguyên tử cacbon trong đó có 1 nhóm carbonyl ở δ_{C} 168,0 (C=O), 1 nhóm methyl ở δ_{C} 19,6 (CH_3), tín hiệu của 4 nhóm methylen ở δ_{C} 44,6 (C-3), 23,4 (C-6), 61,7 (C-8), 62,9 (C-6''). Tín hiệu của 5 nhóm methin vòng thơm ở δ_{C} ở 129,7; 130,7; 131,2. Trong đó 2 cặp tín hiệu tại δ_{C} 129,7 (CH); 130,7 (CH) có tín hiệu cao gấp đôi các tín hiệu khác. Các tín hiệu của phân tử đường ở δ_{C} 102,3; 75,1; 78,1; 72,3; 77,98; 62,9 phù hợp với các giá trị của phân tử đường glucopyranose. Trên phổ ^{13}C -DEPT còn có tín hiệu của 5 cacbon không liên kết trực tiếp với hidro. Trên phổ COSY thấy xuất hiện tín hiệu của 3 chuỗi tương tác spin-spin H-5 (δ_{H} 2,61)/H-6 (δ_{H} 2,21; 1,82), tương tác H-2' (δ_{H} 8,08)/H-3' (δ_{H} 7,51)/H-4' (δ_{H} 7,63) /H-5' (δ_{H} 7,51)/H-6' (δ_{H} 8,08) và tương tác H-1'' (δ_{H} 4,55)/H-2'' (δ_{H} 3,24)/H-3'' (δ_{H} 3,28)/H-4'' (δ_{H} 3,25) /H-5'' (δ_{H} 3,30)/H-6'' (δ_{H} 3,62; 3,87). Dựa vào các dữ liệu phổ HRMS, ^1H -NMR, ^{13}C -DEPT độ quay cực và so sánh số liệu phổ với tài liệu tham khảo xác định được chất tinh chế được là paeoniflorin [5 – 8].



Hình 3. Phổ HR-MS của chuẩn Paeoniflorin (a) và của chất tinh chế (b)

Phổ hồng ngoại (IR).

Phổ IR (KBr), ν_{max} (cm^{-1}) của chất tinh chế được có các đỉnh đặc trưng tương đương các đỉnh đặc trưng của chất chuẩn paeoniflorin USP với hệ số tương đồng là 98,53%.

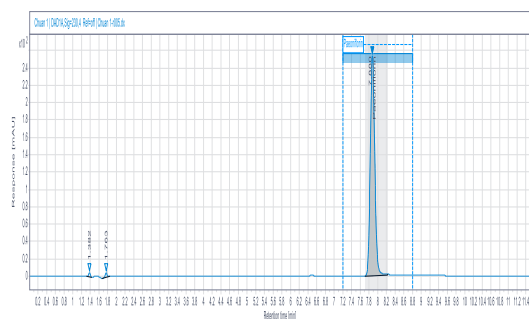
Phổ hấp thụ tử ngoại-khả kiến (UV-VIS).

Phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến ở dải bước sóng từ 200 – 400 nm của dung dịch chất tinh chế có nồng độ 0,1 mg/mL trong hỗn hợp methanol – nước (50 : 50)

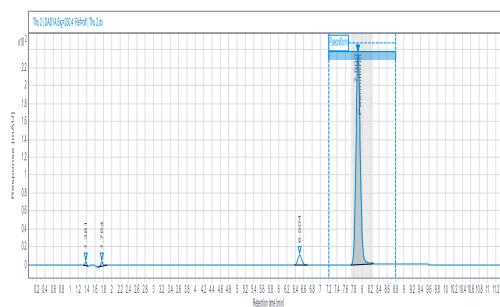
tương tự phổ UV-VIS của dung dịch chuẩn paeoniflorin USP đo trong cùng điều kiện và hệ số chồng phổ là 0,9999.

HPLC/DAD

Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (7,900 phút) tương ứng với thời gian lưu của pic paeoniflorin (7,880 phút) trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn ở mức định lượng (hình 4).



(a)



(b)

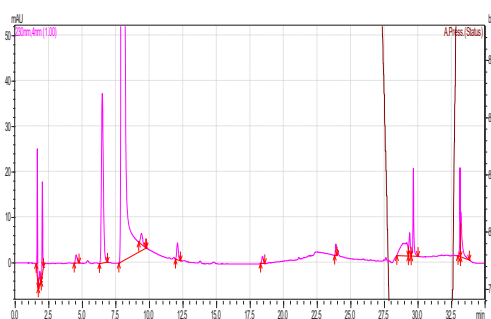
Hình 4. Sắc ký đồ của chất chuẩn paeoniflorin (a) và chất tinh chế (b)

Từ kết quả giải phổ NMR kết hợp chồng phổ IR, phổ UV và sắc ký đồ HPLC/DAD của chất tinh chế và chất chuẩn khẳng định chất tinh chế được là paeoniflorin.

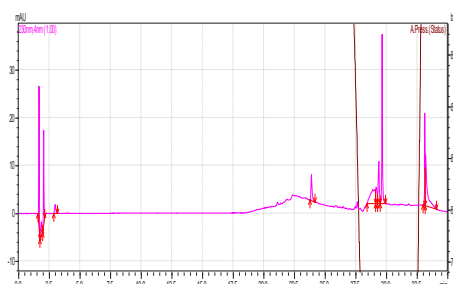
3.2.2. Xác định độ tinh khiết của nguyên liệu paeoniflorin

* Xác định tổng tạp chất liên quan của paeoniflorin bằng phương pháp HPLC/DAD

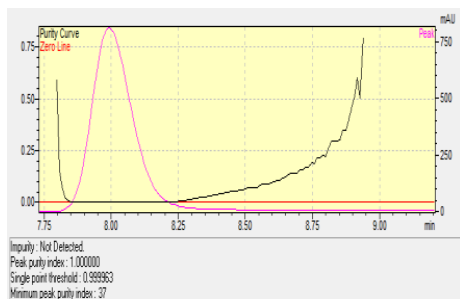
Tiến hành xác định hàm lượng tạp chất của chất tinh chế như trong phương pháp nghiên cứu, ghi sắc ký đồ, thời gian lưu và diện tích pic paeoniflorin trên sắc ký đồ dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành thực hiện trên 03 mẫu thử, kết quả trung bình hàm lượng tạp chất liên quan của paeoniflorin là 5,6%. Sắc ký đồ dung dịch thử, mẫu trắng, độ tinh khiết pic và phổ 3D của pic paeoniflorin (hình 5).



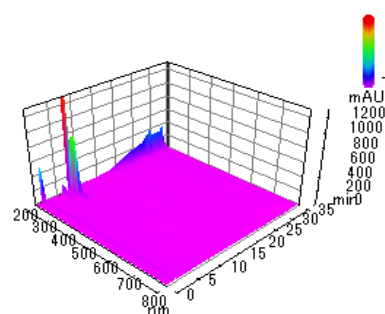
(a)



(b)



(c)



(d)

Hình 5. SKĐ của dung dịch thử paeoniflorin (a); SKĐ của dung dịch thử mẫu trắng (b); Độ tinh khiết pic paeoniflorin (c); Phổ 3D của dung dịch thử xác định hàm lượng paeoniflorin (d).

*Xác định tạp bay hơi bằng phương pháp TGA

Tiến hành cân khoảng 3 mg mẫu thử trong cốc đo và tiến hành đo trên thiết bị TGA, tiến hành thí nghiệm 3 lần, kết quả mất khối lượng do làm khô trung bình là 2,11%.

3.3. Thiết lập chuẩn paeoniflorin

3.3.1. Đóng lọ

2,8 g nguyên liệu chất chuẩn paeoniflorin được đóng lọ thủy tinh màu nâu 2 mL, khối lượng chất chuẩn trong mỗi lọ 10 mg, trong điều kiện đóng được theo dõi bằng nhiệt ẩm kế: độ ẩm là < 5%, nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ và nạp khí nitơ độ tinh khiết: 99,999%. Tổng số lọ thu được là 260 lọ.

3.3.2. Kiểm tra đồng nhất đóng lọ

Lấy 10 lọ ngẫu nhiên trong số lọ đóng được đem đánh

giá đồng nhất (mục 2.2.2). Kết quả phân tích ANOVA cho thấy các lọ đóng gói hàm lượng không khác biệt về mặt thống kê $F = 0,007$; $F_{\text{crit}} = 4,41$ ($F < F_{\text{crit}}$), có thể kết luận lô chuẩn đồng nhất về hàm lượng.

3.3.3. Xác định giá trị ấn định của chất chuẩn paeoniflorin

Xác định hàm lượng nguyên trạng của chất chuẩn paeoniflorin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, so sánh với chất chuẩn paeoniflorin USP. Hai kiểm nghiệm viên tiến hành phân tích mẫu độc lập trên 16 mẫu thử và các kết quả thử nghiệm được xử lý theo phương pháp thống kê được trình bày trong Bảng 1, dựa vào kết quả phân tích thống kê cho thấy các kết quả hàm lượng paeoniflorin của các kiểm nghiệm viên khác nhau không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 1. Kết quả t test

	Kiểm nghiệm viên 1			Kiểm nghiệm viên 2	
	90,51	92,47	91,60	90,44	91,20
	92,36	91,94	91,75	91,33	90,57
	92,15	91,76	91,33	91,05	91,64
	91,88				
Trung bình	91,77			91,04	
Phương sai	0,315			0,210	
Số kết quả	10			6	
Bậc tự do	14				
Ttn	2,708				
Ttc	2,977				

Hàm lượng chuẩn paeoniflorin (%), $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$, nguyên trạng) là 91,5% được tính bằng cách lấy giá trị trung bình 16 kết quả thử nghiệm của 2 kiểm nghiệm viên, độ không đảm bảo đo mở rộng là $U = \pm 0,31\%$ (hệ số phủ $k = 2$ ở độ tin cậy 95%).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được quy trình chiết xuất, phân lập và tinh chế paeoniflorin từ Bạch thược bằng

phương pháp chiết lỏng - lỏng và sắc ký cột pha thuận silica gel với hệ dung môi CH_2Cl_2 - MeOH (90 : 10 tt/tt) đến (93 : 7). Tinh chế bằng sắc ký cột nhồi silica gel pha đảo RP-18 (150 μm), dung môi là MeOH - H_2O (20 : 80) rửa giải, thu được 3,2 g hợp chất tinh khiết và được khẳng định cấu trúc là paeoniflorin. Chất chuẩn paeoniflorin được đóng ống chuẩn 10 mg/ống, xác định giá trị ấn định ghi trên nhãn tính trên nguyên trạng bằng HPLC/DAD là $91,5 \pm 0,31\%$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi (2021), *Bạch thược*, Từ điển Cây thuốc Việt Nam Tập 1, Nhà xuất bản Y học, trang 107-108.
2. Yu-Qing Tan (2020), *Efficacy, Chemical Constituents, and Pharmacological Actions of Radix Paeoniae Rubra and Radix Paeoniae Alba*, *Front. Pharmacol, Ethnopharmacology* Volume 11, <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01054>.
3. Hội đồng Dược điển Việt nam, Bộ y tế (2019), Chuyên luận bạch thược, *Dược điển Việt Nam V, tập II*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
4. Chinese Pharmacopoeia Commission-Ministry of Health (2020), *The People of Republic of China Pharmacopoeia*, People's Medical Publishing House.
5. Phạm Văn Kiệm (2007), Paeoniflorin và benzoylpaeoniflorin phân lập từ cây Bạch thược. (*Paeonia lactiflora* pall.), *Tạp chí Hóa học*, T. 45 (5), Tr. 570 - 574.
6. Lành Thị Ngọc, Nghiên cứu thành phần hóa học của rễ cây Bạch thược (*Paeonia lactiflora* pall.), *Tạp chí Khoa Học & Công Nghệ*, 113(13): trang 141 - 146
7. Susumi Hatakeyama (1994). Total Synthesis of (-)-Paeoniflorin, *J. Am. Chem. Soc.*, 116(9), 4081-4082.
8. Takashi Tanaka (2000), New Monoterpene Glycoside Esters and Phenolic Constituents of Paeoniae Radix, and Increase of Water Solubility of Proanthocyanidins in the Presence of Paeoniflorin. *Chem. Pharm. Bull.*, 48(2), 201-207.
9. International Organization for Standardization (2017), Guide 35: Reference materials–Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability, *International Organization for Standardization (ISO)*, Geneva, 114.