

## BƯỚC ĐẦU XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CHO CAO KHÔ SÂM VIỆT NAM TRỒNG

Trần Thị Thu Vân<sup>1\*</sup>, Nguyễn Minh Đức<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Lạc Hồng, số 10, Huỳnh Văn Nghệ, Bửu Long, Biên Hòa, Đồng Nai, Việt Nam

<sup>2</sup> Đại học Tôn Đức Thắng, số 19, Nguyễn Hữu Thọ, Quận 7, Thành Phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ. Email: [thuvan@lhu.edu.vn](mailto:thuvan@lhu.edu.vn)

### THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận: 20/12/2022  
Ngày hoàn thiện: 16/5/2023  
Ngày chấp nhận: 15/7/2023  
Ngày đăng: 20/9/2023

### TỪ KHÓA

*Panax vietnamensis*;  
Cao Sâm Việt Nam;  
Tiêu chuẩn cơ sở.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., Araliaceae). Cao Sâm Việt Nam (SVN) được bào chế từ thân rễ và rễ củ SVN trồng, 6 tuổi, bằng phương pháp ngâm kiệt. Tiêu chuẩn cơ sở cao khô SVN được xây dựng dựa theo phụ lục 1.1 Dược điển Việt Nam V và một số chỉ tiêu khác. Tiêu chuẩn cơ sở cho cao SVN bước đầu được xây dựng với các chỉ tiêu: Cảm quan, mất khối lượng do làm khô, độ tro toàn phần, tro không tan trong acid, pH, cặn không tan trong nước, giới hạn nhiễm khuẩn, giới hạn kim loại nặng, định tính, định lượng. Trong đó chỉ tiêu định lượng yêu cầu: Hàm lượng ginsenosid-Rg<sub>1</sub> (G-Rg<sub>1</sub>, C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>) trong cao SVN không dưới 7,0%, hàm lượng majonosid-R2 (M-R2, C<sub>41</sub>H<sub>70</sub>O<sub>14</sub>) không dưới 10,3%, hàm lượng ginsenosid-Rb<sub>1</sub> (G-Rb<sub>1</sub>, C<sub>54</sub>H<sub>92</sub>O<sub>23</sub>) không dưới 1,8%, tổng hàm lượng 3 saponin chính không dưới 19,0% và tỷ lệ hàm lượng M-R2/G-Rg<sub>1</sub> trong khoảng 1,2 - 1,7%, tính theo chế phẩm khô kiệt

## PRELIMINARY ESTABLISHMENT OF IN-HOUSE STANDARDS FOR THE DRIED EXTRACT FROM GINSENG CULTIVATED IN VIETNAM

Tran Thi Thu Van<sup>1\*</sup>, Nguyen Minh Duc<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lac Hong University, No.10, Huynh Van Nghe St. Buu Long Ward, Bien Hoa City, Dong Nai, Vietnam

<sup>2</sup>Ton DucThang University,, 19 Nguyen Huu Tho St., Tan Phong Ward, District 7, Ho Chi Minh city, Vietnam

\*Corresponding Author: [thuvan@lhu.edu.vn](mailto:thuvan@lhu.edu.vn)

### ARTICLE INFO

Received: Dec 20, 2022  
Revised: May 16, 2023  
Accepted: July 15, 2023  
Published: Sep 20, 2023

### KEYWORDS

*Panax vietnamensis*;  
Vietnamese ginseng dried extract;  
In-house standard.

### ABSTRACT

This study was conducted to establish in-house standards for the dried extract from Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., Araliaceae). Radix and rhizoma of ginseng cultivated in Vietnam (VG), 6-year-old, were extracted by percolation extraction method. The in-house standards were then established for the final dried extract based on the Appendix 1.1, the Vietnamese Pharmacopoeia, fifth edition, and other reference standards. A set of standards of dried extract from VG was established through: organoleptic evaluation, loss on drying, total ash, ash insoluble in hydrochloric acid, pH, insoluble residue, microbial limit, the limit of heavy metals, qualitative and quantitative analysis. The quantitative standards were that in VG dried extract, the contents of ginsenoside-Rg<sub>1</sub> (G-Rg<sub>1</sub>, C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>), majonoside-R2 (M-R2, C<sub>41</sub>H<sub>70</sub>O<sub>14</sub>), ginsenoside-Rb<sub>1</sub> (G-Rb<sub>1</sub>, C<sub>54</sub>H<sub>92</sub>O<sub>23</sub>) were not less than 7.0%, 10.3%, 1.8%, respectively; the total contents of 3 main saponins were not less than 19.0%; the ratio of M-R2/G-Rg<sub>1</sub> were in the range of 1.2-1.7%, calculated on the anhydrous basis.

Doi: <https://doi.org/10.61591/jslhu.15.326>

Available online at: <https://js.lhu.edu.vn/index.php/lachong>

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., Araliaceae), còn gọi là Sâm Ngọc Linh, Sâm khu 5 là một cây thuốc quý với thành phần hóa học đa dạng và các tác dụng dược lý đáng chú ý như tăng lực, chống nhược sức, cải thiện trí nhớ, chống stress, chống trầm cảm, giải lo âu, kháng khuẩn, kháng viêm, bảo vệ gan và thận, .... [1-7] Ngoài các thành phần ginsenosid, trong Sâm Việt Nam (SVN) còn chứa các saponin dammaran có cấu trúc ocotillol với hàm lượng lớn hơn nhiều so với các loài sâm khác [1, 8, 9]. Do vậy SVN đã trở thành một trong những loài *Panax* quý hiếm nhất và thu hút nhiều sự đầu tư nghiên cứu từ các nhà khoa học trong và ngoài nước.

Do khai thác lén lút, trái phép, trữ lượng SVN tự nhiên đã giảm sút đến mức báo động. Nguồn SVN trên thị trường hiện nay chủ yếu là SVN trồng. Một số nghiên cứu cho thấy về mặt thực vật, thành phần hóa học, hàm lượng hoạt chất trong sâm trồng tương tự với sâm thiên nhiên [10-12]. Hàm lượng các saponin chính như G-Rg<sub>1</sub>, G-Rb<sub>1</sub>, G-Rd và đặc biệt là M-R2 trong SVN trồng sau 5 năm tăng trưởng cho kết quả tương đối ổn định [13].

Mặt khác, Dược điển Việt Nam cho đến nay chỉ có chuyên luận về SVN và vẫn chưa có chuyên luận về cao SVN. Do vậy, để đảm bảo chất lượng ổn định cho các thuốc được sản xuất từ SVN trồng, nâng cao sức cạnh tranh và giá trị của SVN so với các loại sâm khác, thì tiêu chuẩn hóa cao SVN trồng là việc làm hết sức cần thiết.

Nghiên cứu này nhằm chiết xuất cao khô từ thân rễ và rễ củ SVN trồng và bước đầu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao khô SVN, tạo tiền đề cho việc tiêu chuẩn hóa cao SVN và các sản phẩm khác từ SVN.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng

Thân rễ và rễ củ SVN trồng, 6 tuổi, dạng tươi, được cung cấp bởi Trại Dược liệu Trà Linh (Nam Trà My, Quảng Nam) vào tháng 11/2015 và tháng 3-6/2016. Dược liệu sau đó được rửa sạch, phơi/sấy khô và bảo quản tại Ban Nghiên Cứu Khoa Học - Thư viện, Khoa Dược, Đại Học Y Dược TP.HCM.

### 2.2. Dung môi, hóa chất

Methanol, acetonitril (Merk) đạt tiêu chuẩn sắc ký lỏng. Các dung môi, hóa chất khác đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

Chất đối chiếu gồm ginsenosid-Rb<sub>1</sub> (hàm lượng 99,17%), ginsenosid-Rd (hàm lượng 94,48%), ginsenosid-Rg<sub>1</sub> (hàm lượng 96,43%) và majonosid-R2 (hàm lượng 98,86%) được cung cấp bởi Ban Nghiên Cứu Khoa Học - Thư viện, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. HCM.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### Thăm dò dung môi chiết xuất cao SVN

Mẫu 2 g dược liệu (kích thước < 2 mm), chiết xuất bằng phương pháp ngâm lạnh trong 48 giờ ở nhiệt độ phòng, tỉ lệ dược liệu dung môi 1/10. Nồng độ ethanol khảo sát được thay đổi lần lượt 10%, 30%, 45%, 60%, 75%, 90%. Quy trình chiết xuất được lặp lại 3 lần. Các dịch chiết được gom lại, trộn đều, lọc, cho vào bình định mức 100 ml và bổ sung dung môi đến vạch, thu được dịch lọc A.

Sử dụng 50 ml dịch lọc A để xác định hiệu suất chiết cao theo phương pháp được mô tả trong tài liệu [14].

Rút 10 ml dịch lọc A cô trên bếp cách thủy đến cạn, hòa cạn trong khoảng 5 ml methanol 70%, siêu âm 10 phút, để yên trong 10 phút, thêm dung môi vừa đủ 10 ml, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm. Chất lượng dịch chiết được đánh giá thông qua diện tích pic của các saponin chính G-Rg<sub>1</sub>, M-R2, G-Rb<sub>1</sub>.

Dựa trên hiệu suất chiết và chất lượng dịch chiết thu được để lựa chọn nồng độ ethanol phù hợp.

#### Quy trình chiết xuất cao khô SVN

Cân 50 g dược liệu đã được chia nhỏ đến kích thước phù hợp (qua được rây 2 mm), làm ẩm với lượng ethanol vừa đủ rồi đậy kín, để yên trong khoảng 4 giờ. Chuyển dược liệu vào bình ngâm kiệt (kích thước 6 × 4 × 25 cm), thêm ethanol vào đến khi ngập hoàn toàn khối dược liệu. Sau 24 giờ rút lấy dịch chiết. Quá trình chiết xuất được theo dõi bằng phản ứng tạo bọt và màu của vết chấm trên bản sắc lý lớp mỏng (SKLM) sau khi phun H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%/ethanol và sấy ở 105°C đến khi hiện màu. Quá trình chiết xuất được chấm dứt khi dịch chiết không còn cho bọt bền và vết chấm trên bản sắc ký lớp mỏng không còn màu đỏ tím của các hợp chất saponin. Dịch chiết được gom lại và cô bay hơi dung môi bằng cách cô quay với áp suất giảm ở nhiệt độ 50 °C thu được dịch chiết đậm đặc, sau đó tiếp tục sấy chân không để thu được cao khô toàn phần. Hiệu suất chiết cao (H%) được tính toán theo công thức sau:

$$H(\%) = \frac{m_c \times a}{m_{dl} \times b} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:

m<sub>c</sub>: Khối lượng cao thu được (g)

m<sub>dl</sub>: Khối lượng dược liệu ban đầu (g)

a: Độ ẩm cao (%)

b: Độ ẩm dược liệu (%)

#### Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao khô SVN

Tiêu chuẩn cao khô SVN sẽ được xây dựng dựa trên các chỉ tiêu được quy định trong ĐĐVN V gồm: Cảm quan, mất khối lượng do làm khô, độ tro toàn phần, tro không tan trong acid, cặn không tan trong nước, pH, giới hạn nhiễm khuẩn, giới hạn kim loại nặng, định tính, định lượng [15]. Các kết quả được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình hoặc trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần thử nghiệm độc lập.

**Cảm quan:** Mô tả cảm quan về thể chất, màu sắc, mùi, vị, ... của cao khô SVN.

**Mất khối lượng do làm khô:** Thực hiện theo ĐĐVN V, Phụ lục 9.6.

**Tro toàn phần:** Thực hiện theo ĐĐVN V, Phụ lục 9.8.

**Tro không tan trong acid hydrochloric:** Thực hiện theo ĐĐVN V, Phụ lục 9.7.

**Tro sulfat:** Thực hiện theo ĐĐVN V, Phụ lục 9.9.

**pH:** Tiến hành theo ĐĐVN V, phụ lục 6.2.

**Cặn không tan trong nước:** Cân khoảng 1 g cao, hòa trong 50 ml nước cất vào trong cốc có mỏ. Lọc qua giấy lọc đã cân bì, sấy khô ở 100 °C, để nguội 1 giờ trong bình hút ẩm. Cân, tính phần trăm cặn không tan trong nước so với khối lượng cao.

**Giới hạn kim loại nặng:** Tiến hành theo ĐĐVN V, phụ lục 9.4.8.

**Giới hạn nhiễm khuẩn:** Tiến hành theo ĐDVN V, phụ lục 13.6.

**Định tính bằng SKLM**

**Bản mỏng:** Silica gel GF<sub>254</sub> trắng sẵn.

**Dung môi khai triển:** CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (65:35:10, lớp dưới).

**Dung dịch thử:** Lấy 0,1 g cao, thêm 2 ml methanol, siêu âm 5 phút, ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút trong 5 phút. Gạn lấy dịch phía trên làm dung dịch thử.

**Dung dịch chất đối chiếu:** Hòa tan riêng biệt 1 mg các chất chuẩn (G-Rb<sub>1</sub>, G-Rd, G-Rg<sub>1</sub>, M-R2) vào 1 ml methanol.

**Cách tiến hành:** Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl cho mỗi dung dịch thử và các dung dịch chuẩn. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol, sấy ở 105 °C đến khi hiện màu. Quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của mẫu thử phải có các vết chính có cùng màu sắc và giá trị R<sub>f</sub> với các vết chất chuẩn G-Rb<sub>1</sub>, G-Rd, G-Rg<sub>1</sub>, M-R2.

**Định tính bằng phương pháp HPLC**

Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký ở phần định lượng. Thời gian lưu của các pic G-Rb<sub>1</sub>, G-Rg<sub>1</sub>, M-R2 trên sắc ký đồ mẫu thử phải tương ứng với thời gian lưu trên sắc ký đồ của các chất chuẩn.

**Định lượng**

Định lượng đồng thời ginsenosid-Rb<sub>1</sub> (G-Rb<sub>1</sub>), ginsenosid-Rg<sub>1</sub> (G-Rg<sub>1</sub>) và majonosid-R2 (M-R2) bằng HPLC. Quy trình định lượng đã được thẩm định và đạt các yêu cầu của ICH về tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ lặp lại và độ đúng.

**Chuẩn bị mẫu**

- **Mẫu thử:** Cân chính xác khoảng 40 mg cao khô SVN, cho vào bình định mức 10 ml, thêm khoảng 5 ml methanol 70%, siêu âm 10 phút, để yên trong 10 phút, thêm dung môi vừa đủ 10 ml, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

- **Mẫu chuẩn:** Pha hỗn hợp các chuẩn G-Rg<sub>1</sub>, M-R2, G-Rb<sub>1</sub> trong methanol 70% để được dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt 0,3 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,1 mg/ml.

- **Mẫu trắng:** Hỗn hợp dung môi methanol - nước (70:30).

**Điều kiện sắc ký:** Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent Infinity 1260 (Mỹ) với đầu dò DAD; cột Zorbax Eclipse Plus-C18 (150 × 4,6 mm; 5 µm); thể tích tiêm mẫu: 20 µl; tốc độ dòng: 1 ml/phút; nhiệt độ cột: 30 °C; bước sóng phát hiện: 196 nm.

**Pha động:** Acetonitril - nước (Chương trình Gradient)

Thời gian (phút)	Acetonitril (%)	Nước (%)
0 – 15	19,5 → 30	80,5 → 70
15 – 35	30 → 40	70 → 60
35 – 40	40 → 95	60 → 5
40 – 55	95	5
55 – 56	95 → 19,5	5 → 80,5
56 – 66	19,5	80,5

Hàm lượng G-Rg<sub>1</sub>, M-R2, G-Rb<sub>1</sub> được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng (\%)} = \frac{S_i \times C_c \times a \times 1000}{S_c \times m \times (1 - h)} \quad (2)$$

Trong đó:

S<sub>i</sub>: Diện tích đỉnh của mẫu thử (mAU×s)

S<sub>c</sub>: Diện tích đỉnh của mẫu chuẩn (mAU×s)

C<sub>c</sub>: Nồng độ chất chuẩn (mg/ml)

a: Độ tinh khiết chất chuẩn

m: Khối lượng mẫu thử (mg)

h: Độ ẩm của cao

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Kết quả khảo sát nồng độ ethanol chiết xuất**

Kết quả khảo sát nồng độ ethanol dùng để chiết xuất cao SVN được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1.** Diện tích đỉnh của các saponin chính trong SVN và hiệu suất chiết cao ở các nồng độ ethanol khác nhau.

Nồng độ cồn	Diện tích đỉnh			Hiệu suất chiết (%)
	G-Rg <sub>1</sub>	M-R2	G-Rb <sub>1</sub>	
10%	4391,8	157,4	995,3	53,38
30%	4469,6	154,6	974,7	53,24
45%	<b>4464,7</b>	<b>160,7</b>	<b>1022,8</b>	<b>54,06</b>
60%	4482,2	157,3	956,9	53,59
75%	<b>4651,9</b>	<b>162,1</b>	<b>1031,0</b>	<b>50,33</b>
90%	4518,6	153,6	969,4	44,08

Khảo sát cho thấy nồng độ ethanol 45% cho hiệu suất chiết ở mức cao nhất (54,06%) và hàm lượng các saponin ở mức tương đối, trong khi ethanol 75% lại cho thấy cao chiết có chất lượng tốt hơn nhưng hiệu suất chiết kém hơn so với các nồng độ cồn thấp và trung bình. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu về ảnh hưởng của dung môi đến chiết xuất ginsenosid, cho thấy khi tăng nồng độ cồn thì hiệu suất chiết giảm nhưng hàm lượng ginsenosid tăng lên [16, 17]. Mặt khác, nghiên cứu trước đó cũng cho thấy quy trình chiết xuất cao SVN đạt tối ưu ở nồng độ ethanol trung bình [14]. Do vậy, để cân bằng giữa hiệu suất chiết và chất lượng cao chiết, trong nghiên cứu này ethanol 45% được lựa chọn làm dung môi cho quy trình chiết xuất cao khô SVN.

**3.2. Kết quả chiết xuất cao khô SVN**

Hiệu suất chiết cao theo phương pháp ngâm kiệt đạt 56,29% (Bảng 2).

**Bảng 2.** Hiệu suất chiết cao SVN

Lô	Khối lượng dược liệu (g)	Độ ẩm dược liệu (%)	Khối lượng cao (g)	Độ ẩm cao (%)	Hiệu suất chiết (%)
1	50,00	11,00	25,00	4,80	54,03
2	50,00	8,87	27,48	3,95	57,93
3	50,00	8,98	27,15	4,60	56,91
<b>TB</b>		9,62	26,54	4,45	56,29

TB: Trung bình

**3.3. Kết quả khảo sát các chỉ tiêu chất lượng của cao khô SVN**

Cảm quan: Bột cao khô tơi, có màu vàng nâu, óng ánh, có mùi thơm đặc trưng, rất đắng, dễ hút ẩm (Hình 1).



Hình 1. Cao khô SVN

Kết quả kiểm nghiệm về độ ẩm, độ tro, pH, cặn không tan trong nước, giới hạn kim loại nặng và giới hạn nhiễm khuẩn được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đo độ ẩm, độ tro toàn phần và tro không tan trong acid hydroclodric của cao khô SVN

Lô	Tro toàn phần	Tro không tan trong
----	---------------	---------------------

Bảng 5. Giới hạn nhiễm khuẩn của cao khô SVN

Chỉ tiêu	Mức chất lượng	Kết quả
1. Tổng số vi khuẩn hiếu khí	Không quá 1000 cfu/g	Đạt (550 cfu/g)
2. Tổng số nấm men, nấm mốc	Không quá 100 cfu/g	Đạt (< 10 cfu/g)
3. <i>Enterobacteria</i> và các vi khuẩn gram âm khác	Không quá 500 cfu/g	Đạt (< 10 cfu/g)
- <i>Escherichia coli</i>	Không có trong 1 g	Đạt (không phát hiện/g)
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Không có trong 1 g	Đạt (không phát hiện/g)
- <i>Staphylococcus</i>	Không có trong 1 g	Đạt (không phát hiện/g)
- <i>Salmonella</i>	Không có trong 1 g	Đạt (không phát hiện/g)

### Định tính bằng sắc ký lớp mỏng

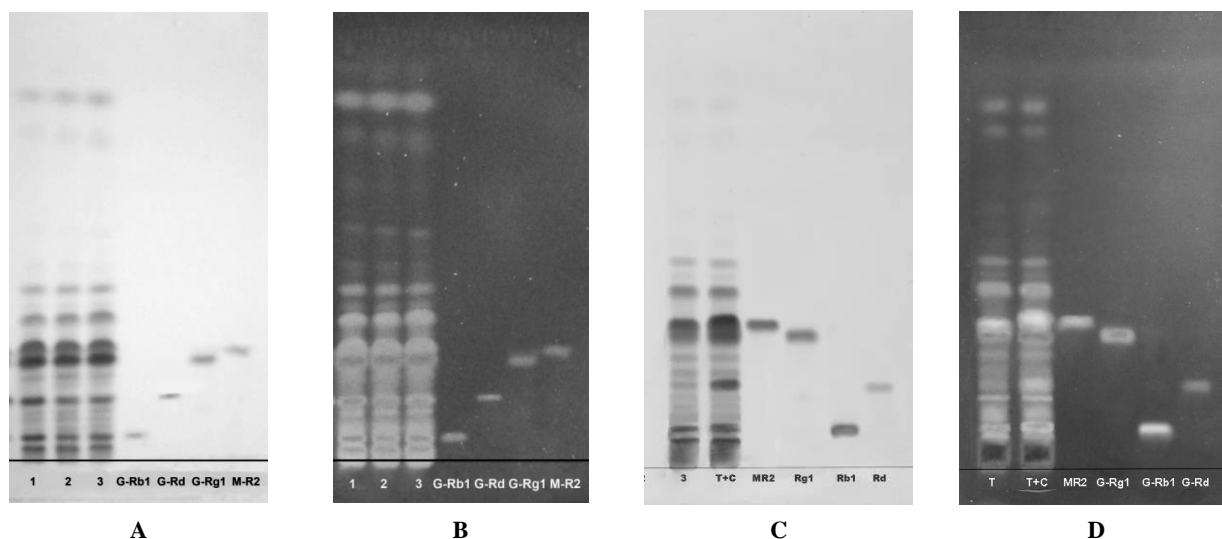
Kết quả định tính cho thấy các mẫu cao SVN đều có các vết có cùng màu sắc và  $R_f$  với các vết chất chuẩn G-Rb<sub>1</sub>, G-Rd, G-Rg<sub>1</sub> và M-R2 (Hình 2A, 2B). Giá trị  $R_f$  của các vết được thể hiện trong Bảng 6.

Hình 2C và 2D cho thấy trên sắc ký đồ của mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn đều có các vết có cùng  $R_f$  với các vết chất chuẩn, đồng thời ở mẫu thử thêm chuẩn các vết G-Rb<sub>1</sub>, G-Rd, G-Rg<sub>1</sub> và M-R2 lớn hơn và có màu sắc đậm hơn so

với các vết tương ứng trên mẫu thử. Như vậy, quy trình định tính bằng SKLM có tính đặc hiệu.

Bảng 6. Kết quả SKLM cao khô SVN

Vết chính	Saponin	$R_f$
1	G-Rb <sub>1</sub>	0,09
2	G-Rd	0,23
3	G-Rg <sub>1</sub>	0,36
4	M-R2	0,40



Hình 2. Sắc ký đồ định tính cao khô SVN bằng SKLM

Quan sát dưới ánh sáng thường (A, C) và UV 365 nm (B, D). 1, 2, 3: Mẫu cao ngâm kiệt 1, 2, 3. T: Mẫu thử. T+C: Mẫu thử thêm chuẩn.



**Định tính bằng phương pháp HPLC**

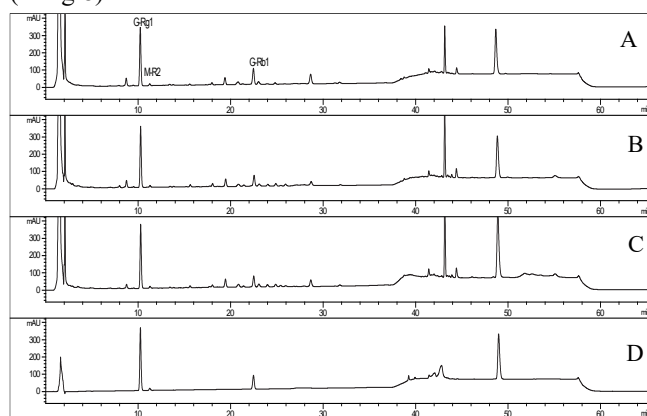
Kết quả cho thấy thời gian lưu của các pic G-Rb<sub>1</sub>, G-Rg<sub>1</sub>, M-R2 trên sắc ký đồ mẫu thử tương ứng với thời gian lưu trên sắc ký đồ của các chất chuẩn (Hình 3, Bảng 7).

**Bảng 7.** Thời gian lưu của các pic trên sắc ký đồ HPLC

Mẫu	Thời gian lưu (phút)		
	G-Rg <sub>1</sub>	M-R2	G-Rb <sub>1</sub>
Mẫu thử	10,243	11,256	22,472
Mẫu chuẩn	10,228	11,250	22,465

**Định lượng**

Kết quả định lượng các saponin chính trong cao SVN bằng phương pháp HPLC cho thấy trong 100 mg cao khô SVN chứa 7,61% G-Rg<sub>1</sub>, 11,18% M-R2 và 2,43% G-Rb<sub>1</sub> (Bảng 8).



**Hình 3.** Sắc ký đồ HPLC định lượng cao khô SVN  
A. Cao SVN lô 1; B. Cao SVN lô 2; C. Cao SVN lô 3;  
D. Mẫu chuẩn

**Bảng 8.** Hàm lượng G-Rg<sub>1</sub>, M-R2, G-Rb<sub>1</sub> trong cao khô SVN

Lô	Hàm lượng (%)			Tổng hàm lượng saponin chính
	G-Rg <sub>1</sub>	M-R2	G-Rb <sub>1</sub>	
1	7,45	11,47	3,12	22,04
2	7,50	11,29	2,09	21,04
3	7,73	10,82	2,11	20,58

**Bảng 9.** Dự thảo tiêu chuẩn cơ sở cao khô SVN

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp thử	Mức chất lượng
1.	Hình thức cảm quan	Cảm quan về thể chất, màu sắc, mùi, vị.	Bột mịn, màu vàng nâu, óng ánh, có mùi thơm đặc trưng, vị rất đắng, dễ hút ẩm.
2.	Mất khối lượng do làm khô	Thực hiện theo ĐBVN V, phụ lục 9.6	Không quá 5%
3.	Độ tro - Tro toàn phần - Tro không tan trong acid	Thực hiện theo ĐBVN V - Phụ lục 9.8, phương pháp 2. - Phụ lục 9.7, phương pháp 1.	Không quá 6% Không quá 1%
4.	pH	Thực hiện theo ĐBVN V, phụ lục 6.2. Tiến hành: Cân khoảng 1 g cao, hòa trong 50 ml nước cất đun sôi để nguội. Lọc, lấy dịch lọc, dùng dịch lọc để đo pH.	Trong khoảng 4,5 - 5,5
5.	Căn không tan trong nước	Tiến hành: Cân khoảng 1 g cao, hòa trong 50 ml nước cất vào trong cốc có mô. Lọc qua giấy lọc đã cân bì, sấy khô ở 100 °C, để nguội 1 giờ trong bình hút ẩm. Cân, tính phần trăm căn không tan trong nước so với khối lượng cao.	Không quá 1,5%
6.	Giới hạn kim loại nặng	Thực hiện theo ĐBVN V, phụ lục 9.4.8.	Không quá 20 ppm
7.	Giới hạn nhiễm khuẩn - Tổng số vi khuẩn hiếu khí	Thực hiện theo ĐBVN V, phụ lục 13.6.	Không được quá 10000 cfu/g Không được quá 100 cfu/g

**TB** 7,61 ± 0,21 11,18 ± 0,49 2,43 ± 0,6 21,22 ± 0,74

TB: Trung bình ± Độ lệch chuẩn

Để đảm bảo chất lượng ổn định của cao khô SVN, chất lượng nguyên liệu đầu vào giữ vai trò hết sức quan trọng. Hiện nay SVN giả mạo, không rõ nguồn gốc xuất xứ đang xuất hiện tràn lan trên thị trường. Do vậy, việc lựa chọn nhà cung cấp uy tín là cần thiết. Bên cạnh đó, tuổi sâm cũng là yếu tố nên được quan tâm. Các nghiên cứu đã chứng minh, hàm lượng saponin trong SVN trồng có sự thay đổi qua các năm. Tuy nhiên, tổng lượng saponin trong thân rễ và rễ củ SVN từ 5-7 năm tuổi thì không có sự khác biệt đáng kể. Vì vậy, SVN trồng có thể khai thác để dùng làm thuốc sau 5 năm tăng trưởng [13, 18]. Trong nghiên cứu này, nguyên liệu SVN được thu mua từ nguồn cung cấp đáng tin cậy ở vùng núi Ngọc Linh (Quảng Nam), vốn là vùng đất phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển của SVN. Các mẫu nghiên cứu đều là Sâm trồng, 6 tuổi, được thu hái ở các thời điểm khác nhau trong năm, được kiểm tra và đạt tiêu chuẩn theo ĐBVN V. Các mẫu cao khô SVN đã được đánh giá theo các yêu cầu chung của cao thuốc được quy định trong phụ lục 1.1 ĐBVN V. Kết quả kiểm nghiệm các cao này là tiền đề để xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao khô SVN.

**3.4. Dự thảo tiêu chuẩn cơ sở cho cao khô SVN**

Dựa trên kết quả kiểm nghiệm cao SVN điều chế bằng phương pháp ngâm kiệt, chúng tôi bước đầu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao khô SVN. Kết quả trình bày ở Bảng 9.

**4. KẾT LUẬN**

Tiêu chuẩn cơ sở cho cao SVN bước đầu được xây dựng với các chỉ tiêu: Cảm quan, độ ẩm, độ tro toàn phần, tro không tan trong acid, pH, căn không tan trong nước, giới hạn nhiễm khuẩn, giới hạn kim loại nặng, định tính, định lượng. Hàm lượng G-Rg<sub>1</sub> trong cao SVN yêu cầu không ít hơn 7,0%, hàm lượng M-R2 không ít hơn 10,3%, hàm lượng G-Rb<sub>1</sub> không ít hơn 1,8% và tổng hàm lượng 3 saponin chính không ít hơn 19,0%, tính theo chế phẩm khô kiệt. Tỷ lệ hàm lượng M-R2/G-Rg<sub>1</sub> trong khoảng 1,2 - 1,7%.

	- Tổng số nấm men, nấm mốc - Tổng số <i>Enterobacteria</i> - Vi khuẩn gây bệnh: <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Salmonella</i>		Không được quá 500 cfu/g Không được có
8.	Định tính	A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng <i>Bản mỏng: Silica gel F<sub>254</sub></i> <i>Dung môi khai triển: Cloroform : methanol : nước (65:35:10, lớp dưới).</i> <i>Dung dịch đối chiếu:</i> Hòa tan riêng biệt 1 mg majonosid-R2, ginsenosid-Rg <sub>1</sub> , ginsenosid-Rb <sub>1</sub> , ginsenosid-Rd trong 1 ml methanol để làm chuẩn. <i>Dung dịch thử:</i> Lấy 0,1 g cao, thêm 2 ml methanol, siêu âm 5 phút, ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút trong 5 phút. Gạn lấy dịch nổi làm dung dịch thử. <i>Tiến hành:</i> Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl cho mỗi dung dịch thử và các dung dịch chuẩn. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun <i>dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol (TT)</i> . Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút. Quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại bước sóng 365 nm.	Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có các vết cùng màu và có giá trị R <sub>f</sub> tương đương với R <sub>f</sub> của các vết chất chuẩn (G-Rb <sub>1</sub> , G-Rd, G-Rg <sub>1</sub> , M-R2).
		B. Phương pháp sắc ký lỏng Tiến hành như mục 9.	Thời gian lưu của các pic ginsenosid-Rb <sub>1</sub> , ginsenosid-Rg <sub>1</sub> , majonosid-R2 trên sắc ký đồ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
9.	Định lượng	Phương pháp sắc ký lỏng <i>Pha động: Acetonitril - nước</i> <i>Dung dịch thử:</i> Cân chính xác khoảng 40 mg cao, cho vào bình định mức 10 ml, thêm khoảng 5 ml methanol 70%, siêu âm 10 phút, để yên trong 10 phút, thêm dung môi vừa đủ 10 ml, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm làm dung dịch thử. <i>Dung dịch chuẩn:</i> Pha hỗn hợp các chuẩn G-Rg <sub>1</sub> , M-R2, G-Rb <sub>1</sub> trong methanol 70% để được dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt 0,3 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,1 mg/ml. <i>Điều kiện sắc ký</i> Cột thép không gỉ (150 × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh <i>octadecylsilyl silaca gel</i> dùng cho sắc ký (5 µm). Đầu dò quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 196 nm. Thể tích tiêm mẫu: 20 µl. Tốc độ dòng: 1 ml/phút Nhiệt độ cột: 30 °C <i>Tiến hành:</i> Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:	Hàm lượng G-Rg <sub>1</sub> (C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub> ) không ít hơn 7,0%; hàm lượng M-R2 (C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>14</sub> ) không ít hơn 10,3%; hàm lượng G-Rb <sub>1</sub> (C <sub>54</sub> H <sub>92</sub> O <sub>23</sub> ) không ít hơn 1,8%; tổng hàm lượng 3 saponin chính không ít hơn 19,0%, tính theo chế phẩm khô kiệt. Tỷ lệ hàm lượng M-R2/G-Rg <sub>1</sub> trong khoảng 1,2 - 1,7%.

Thời gian (phút)	Acetonitril (%)	Nước (%)
0 – 15	19,5 → 30	80,5 → 70
15 – 35	30 → 40	70 → 60
35 – 40	40 → 95	60 → 5
40 – 55	95	5
55 – 56	95 → 19,5	5 → 80,5
56 – 66	19,5	80,5

Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Thử tự rửa giải: ginsenosid-Rg<sub>1</sub>, majonosid-R2, ginsenosid-Rb<sub>1</sub>.  
Tính hàm lượng của majonosid-R2, các ginsenosid-Rg<sub>1</sub>, ginsenosid-Rb<sub>1</sub> trong cao Sâm Việt Nam dựa vào diện tích pic majonosid-R2, ginsenosid-Rg<sub>1</sub>, ginsenosid-Rb<sub>1</sub> trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, dung dịch thử và hàm lượng của các chuẩn.

## 5. CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn trường Đại học Lạc Hồng và Khoa Dược, Đại học Y Dược TP.HCM đã tạo điều kiện về cơ sở vật chất và trang thiết bị để chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

## 6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương, *Sâm Việt Nam và một số cây thuốc thuộc họ Nhân sâm*, Nhà xuất bản khoa học Kỹ thuật: Hà Nội, **2007**.
- [2] Dương Hồng Tố Quyên, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Minh Đức, Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng trên thực nghiệm gây tổn thương gan bằng carbon tetrachlorid trên chuột nhắt trắng, *Tạp chí Y học TP.HCM*, **2015**, 19 (5), 143-148.
- [3] Nguyễn Thị Thu Hương, Chung Thị Mỹ Duyên, Dương Hồng Tố Quyên, Nguyễn Minh Đức, Khảo sát tác dụng của cao sâm Việt Nam trồng trên một số chức năng miễn dịch ở động vật bị gây stress cô lập, *Tạp chí Dược liệu*, **2016**, 21 (1+2), 60-65.
- [4] I. J. I. Dela Peña, H. J. Kim, C. J. Botanas, J. B. De La Pena, T. H. Van Le, M. D. Nguyen, J. H. Cheong, The psychopharmacological activities of Vietnamese ginseng in mice: characterization of its psychomotor, sedative-hypnotic, antistress, anxiolytic, and cognitive effects, *Journal of Ginseng Research*, **2017**, 41 (2), 201-208.
- [5] Dương Hồng Tố Quyên, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Minh Đức, Khảo sát tác dụng của các bột chiết từ Sâm Việt Nam trồng trên sự rút ngắn giấc ngủ pentobarbital gây bởi stress cô lập, *Tạp chí Dược liệu*, **2017**, 22 (2), 109-113.
- [6] D. Lee, J. Lee, K. L. Vu-Huynh, T. H. Van Le, T. H. Tuoi Do, G. S. Hwang, N. Yamabe, Protective effect of panaxynol isolated from *Panax vietnamensis* against cisplatin-induced renal damage: in vitro and in vivo studies, *Biomolecules*, **2019**, 9 (12), 890.
- [7] Nguyễn Lê Thanh Tuyền, Vũ Huỳnh Kim Long, Lê Thị Hồng Vân, Nguyễn Minh Đức, Đỗ Thị Hồng Tươi, Khảo sát tác động bảo vệ thận của sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., Araliaceae) trên chuột nhắt gây tổn thương thận bằng cyclosporin A, *Tạp chí Dược học*, **2020**, 526, 64-67.
- [8] Nguyễn Thượng Dong, Nghiên cứu phát triển cây Sâm Việt Nam, *Tạp chí dược liệu*, **2003**, 8 (2), 59-60.
- [9] Le T. H. V., Lee G. J., Vu H. K. L., Kwon S. W., Nguyen N. K., Park J. H., Nguyen M. D., Ginseng Saponins in Different Parts of *Panax vietnamensis*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **2015**, 63 (11), 950-954.
- [10] Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Viết Tựu, Nguyễn Thị Hồng Hoa, Võ Duy Huân, Kazuo Yamasaki, Ryoji Kasai, Khảo sát so sánh Sâm Việt Nam từ nguồn thiên nhiên và trồng trọt - Thông báo số 2: Cấu trúc hóa học các saponin trong cây sâm trồng, *Tạp chí Dược liệu*, **1999**, 4 (1), 7.
- [11] Đặng Ngọc Phái, Nguyễn Như Chính, Nguyễn Minh Đức, Trần Thị Vy Cẩm, Lê Thế Trung, Nguyễn Minh Cang, Tình hình trồng trọt - phát triển cây Sâm Việt Nam và một số kết quả nghiên cứu về cây sâm trồng, *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, **2002**, 6 (1), 12-17.
- [12] L. T. Ha, N. Pawlicki-Jullian, M. Pillon-Lequart, và cộng sự, Hairy root cultures of *Panax vietnamensis*, a promising approach for the production of ocotillo-type ginsenosides, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **2016**, 126 (1), 93-103.
- [13] K. L. Vu-Huynh, H. T. Nguyen, T. H. Van Le, C. T. Ma, G. J. Lee, S. W. Kwon, M. D. Nguyen, Accumulation of saponins in underground parts of *Panax vietnamensis* at different ages analyzed by HPLC-UV/ELSD, *Molecules*, **2020**, 25 (13), 3086.
- [14] Trần Thị Thu Vân, Nguyễn Đức Hạnh, Đỗ Quang Dương, Nguyễn Minh Đức, Tối ưu hóa điều kiện chiết xuất Sâm Việt Nam, *Y học TP. Hồ Chí Minh*, **2019**, Tập 23 (Số 2), 242 - 248
- [15] Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam V: Hà Nội*, **2017**, Tập 2, pp. PL 163-164, PL 197-200, PL 203-204, PL 280, PL 300-311.
- [16] Kwon J. H., Lee G. D., Bélanger J. M., Jocelyn Paré J. R., Effect of ethanol concentration on the efficiency of extraction of ginseng saponins when using a microwave-assisted process (MAP™), *International journal of food science & technology*, **2003**, 38 (5), 615-622.
- [17] Kim S. J., Murthy H. N., Hahn E. J., Lee H. L., Paek K. Y., Parameters affecting the extraction of ginsenosides from the adventitious roots of ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer), *Separation and Purification Technology*, **2007**, 56 (3), 401-406.
- [18] Trần Bảo Trâm, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Thanh Mai, Trương Thị Chiên, Phạm Thế Hải, Phạm Hương Sơn, Đánh giá sinh trưởng và thành phần hoạt chất của Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) trồng ở Quảng Nam, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, **2017**, 2S (33), 227-232.