

ĐỊNH LƯỢNG LYCORIN TRONG CAO ĐẶC NÁNG HOA TRẮNG BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Bùi Hồng Cường*, Trần Thị Thương, Nguyễn Thị Ngân
Trường Đại học Dược Hà Nội

TÓM TẮT

Cao đặc nắng hoa trắng được bào chế từ dược liệu nắng hoa trắng bằng phương pháp sắc với nước. Lycorin là hoạt chất chính của nắng hoa trắng đã được định lượng trong dược liệu nhưng chưa có phương pháp định lượng trong cao đặc. Bài báo trình bày kết quả xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng lycorin trong cao đặc nắng hoa trắng bằng HPLC: Cột phân tích C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), bước sóng phát hiện: 290 nm, tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, nhiệt độ cột: 40°C, pha động acetonitril : acid orthophosphoric 0,1% (chương trình gradient). Phương pháp phân tích có độ nhạy cao, có tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính từ 9,49 μ g/ml đến 303,69 μ g/ml ($r = 1$), độ lặp lại và độ chính xác trung gian tốt (RSD < 3,7%), độ đúng cao (tỷ lệ phục hồi 99,39% đến 101,05%). Hàm lượng lycorin trong cao đặc nắng hoa trắng từ 0,72% đến 1,08%.

Từ khóa: Nắng hoa trắng, cao đặc, lycorin, HPLC.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF LYCORINE IN THE FOLIUM CRINI ASIATICI VISCOUS EXTRACTS BY HPLC

SUMMARY

An HPLC method was proposed for quantification of lycorine in the Folium Crini asiatici viscous extracts (Extractum spisum), which is prepared from Folium Crini asiatici by decoction method with water. The chromatography was established as: Using the C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m) column; the UV detector was set at 290 nm; the mobile phase consisted of acetonitrile – 0.1% orthophosphoric acid solution (gradient program); flow rate was 0.8 ml/min; the column temperature was set at 40°C; injection volume was 10 μ l. The method was validated for the specificity (RSD of peak area = 0.46%; RSD of t_R = 0.12%); linearity ranging from 9.49 – 303.69 μ g/ml ($r = 1$), precision (RSD < 3.7%) and accuracy (recovery: 99.39% - 101.05%). As for practical application, the tested samples showed the content of lycorine ranging from 0.72% to 1.08%.

Keywords: Folium Crini asiatici, viscous extract, lycorine, HPLC.

Chịu trách nhiệm: Bùi Hồng Cường

Email: cuongbh@hup.edu.vn

Ngày nhận: 03/7/2025

Ngày phản biện: 18/7/2025

Ngày duyệt bài: 25/7/2025

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Náng hoa trắng là lá đã phơi hay sấy khô của cây náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.)^[1]. Dược liệu náng hoa trắng đã được sử dụng trong y dược học cổ truyền dùng ngoài để trị các vết tụ máu do sang chấn gây đau đớn, bong gân do té ngã, sưng đau khớp xương hoặc xoa bóp khi bị tê thấp, nhức mỏi chân tay cơ nhục. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, náng hoa trắng có tác dụng làm giảm kích thích khối phì đại tuyến tiền liệt^[1] ... Cao đặc được bào chế từ dược liệu này là bán thành phẩm để tiếp tục bào chế một số sản phẩm. Việc nghiên cứu tiêu chuẩn hoá và xác định được hàm lượng hoạt chất trong cao đặc là cần thiết. Lycorin (LCR) là một alkaloid, thành phần hoạt chất chính của náng hoa trắng, có tác dụng kháng khuẩn, kháng vi rút, kháng ký sinh trùng, chống viêm. Đặc biệt, lycorin có tác dụng chống ung thư trên các dòng tế bào ung thư bạch cầu, đa u tủy xương, tuyến tiền liệt, vú, bàng quang, buồng trứng, phổi, đại trực tràng, gan^[2]. Vì vậy, việc xác định hàm lượng của lycorin có ý nghĩa quan trọng trong công tác kiểm tra chất lượng cao đặc náng hoa trắng và các chế phẩm. Một số tài liệu đã công bố phương pháp định lượng lycorin trong dược liệu náng hoa trắng^[1] và một số dược liệu khác^[3, 4] nhưng chưa có nghiên cứu định lượng chất này trong dạng cao đặc dược liệu. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng phương pháp định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao và xác định hàm lượng lycorin trong cao đặc dược liệu náng hoa trắng làm căn cứ để xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của cao này.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Dược liệu náng hoa trắng được Công ty Cổ phần Indochina cung cấp đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V^[1].

Cao đặc náng hoa trắng được chiết từ dược liệu náng hoa trắng với dung môi nước bằng phương pháp sắc, tỷ lệ dung môi/dược liệu = 20 ml/g, chiết 2 lần x 120 phút. Lọc, gộp dịch lọc, cô cao đến thể chất lỏng sánh, tiếp tục cô cách thủy ở 80°C đến thể chất cao đặc (độ ẩm < 20%).

2.2. Hoá chất, chất chuẩn

Chất chuẩn lycorin (C₁₆H₁₇NO₄) hàm lượng 98,6% (ChemFaces, Lot No. CFS202401). Methanol, acetonitril, acid orthophosphoric đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích dùng cho HPLC (Merck), nước tinh khiết dùng cho HPLC.

2.3. Thiết bị, dụng cụ

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) (Shimadzu, Nhật Bản) bao gồm: bơm LC-30AD, detector mảng diod (DAD) SPD-M20A, hệ thống tiêm mẫu tự động SIL-20A, bộ phận ổn nhiệt CTO-10AS của Shimadzu, cột sắc ký Shim-pack GIST C18; bể siêu âm WUC-D22H (Daihan Scientific, Hàn Quốc); cân phân tích AND GR200 (A&D, Nhật Bản) độ chính xác 0,1 mg; cân phân tích Mettler Toledo XPE105 (Mettler Toledo, Thụy Sĩ) độ chính xác 0,01 mg; hệ thống lọc chân không, màng lọc 0,45 µm x 47 mm Supelco (Mỹ), màng lọc syringe 0,45 µm Shimadzu (Shimadzu, Nhật Bản), lọ đựng mẫu (vial) 1,5 ml Shimadzu (Shimadzu, Nhật Bản); tủ sấy Memmert (Memmert, Đức); các dụng cụ thủy tinh: bình gạn, bình nón, bình định mức, cốc thủy tinh,... và các dụng cụ khác tại phòng thí nghiệm đạt yêu cầu chính xác dùng trong phân tích (Khoa Dược liệu - Dược học cổ truyền và Viện Công nghệ

Dược phẩm Quốc gia, Trường Đại học Dược Hà Nội).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Xác định độ ẩm của cao đặc

Phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô [1]: Cân chính xác khoảng 1,0000 g cao, sấy ở 105°C trong 5 giờ. Cân lại. Tính độ ẩm của cao theo công thức:

$$H(\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

Trong đó: m_0 , m_1 : Khối lượng cao trước và sau sấy.

Chuẩn bị mẫu

Dung môi: Dung dịch methanol 70%.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 3,08 mg chất chuẩn lycorin (hàm lượng 98,6%) cho vào bình định mức 10 ml, thêm khoảng 8 ml methanol 70%, siêu âm cho tan hết và thêm vừa đủ đến vạch bằng methanol 70% thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 303,69 µg/ml. Từ dung dịch chuẩn gốc này pha dãy chuẩn có nồng độ trong khoảng 9,49 - 303,69 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2000 g cao đặc nắng hoa trắng vào bình nón có nút mài 50 ml, thêm chính xác 25 ml methanol 70%, cân, siêu âm trong 30 phút. Để nguội. Cân lại, bổ sung khối lượng mất đi bằng methanol 70%. Lắc đều, lọc qua màng lọc syringe 0,45 µm thu được dung dịch thử để tiêm sắc ký.

Dung dịch thử thêm chuẩn: Hút 1 ml dung dịch thử cho vào lọ đựng mẫu, thêm 0,25 ml dung dịch chuẩn gốc, lắc đều.

Khảo sát điều kiện sắc ký

Tham khảo một số tài liệu [1, 3, 4], và tiến hành khảo sát pha động, nhiệt độ cột và tốc độ dòng để lựa chọn điều kiện sắc ký như sau:

- Pha tĩnh: Cột sắc ký C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm).

- Pha động: Gồm acetonitril (dung môi A) và acid orthophosphoric 0,1% (dung môi B) được khảo sát theo chương trình rửa giải đẳng dòng và gradient.

- Tốc độ dòng: Khảo sát tốc độ dòng 0,8 ml/phút; 1 ml/phút; 1,2 ml/phút.

- Nhiệt độ cột: Nhiệt độ cột được khảo sát tại các mức 20°C, 30°C và 40°C để lựa chọn nhiệt độ cho pic lycorin tách rõ, gọn, cân đối.

- Thể tích tiêm mẫu: 10 µl.

- Bước sóng phát hiện: 290 nm.

Tiêm riêng biệt 10 µl các dung dịch chuẩn vào máy sắc ký, ghi nhận sắc ký đồ, diện tích của pic lycorin. Xây dựng đường hồi qui tuyến tính biểu diễn sự phụ thuộc giữa diện tích pic và nồng độ dung dịch chuẩn (µg/ml) theo phương trình $y = ax + b$.

Tiêm 10 µl dung dịch thử, ghi nhận sắc ký đồ, diện tích của pic lycorin. Nồng độ lycorin trong dung dịch thử (µg/ml) được tính theo công thức:

$$C_t = \frac{S_t - b}{a}$$

Hàm lượng lycorin trong cao khô tuyệt đối được tính theo công thức:

$$X(\%) = C_t \times \frac{0,25}{m_{cd} \times (100 - H)}$$

Trong đó:

S_t : Diện tích pic lycorin trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

C_t : Nồng độ của lycorin trong dung dịch thử (µg/ml).

a : Giá trị hệ số góc của đường hồi qui tuyến tính.

b : Giá trị hệ số chặn của đường hồi qui tuyến tính.

m_{cd} : Khối lượng cao đặc (g).

H : Độ ẩm của cao đặc (%).

2.5. Thẩm định quy trình định lượng

Quy trình định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của AOAC [5] và ICH [6] bao

gồm tính đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, khoảng tuyến tính, độ chính xác (độ lặp lại, độ chính xác trung gian) và độ đúng.

Độ đặc hiệu

Tiến hành sắc ký các dung dịch: mẫu placebo (dung môi methanol 70%), mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn theo điều kiện đã lựa chọn. Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic chính phải có thời gian lưu trùng với pic lycorin trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn, nếu có pic phụ thì pic của chất cần phân tích phải tách hoàn toàn ra khỏi pic này. Trên sắc ký đồ của mẫu placebo không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với pic lycorin.

Độ phù hợp của hệ thống

Tính tương thích của hệ thống sắc ký được xác định bằng cách phân tích dung dịch chuẩn lycorin có nồng độ thích hợp 6 lần lặp lại trong điều kiện sắc ký đã lựa chọn. Ghi lại các thông số về thời gian lưu, diện tích của pic lycorin. Tính RSD (%) của thời gian lưu và diện tích pic.

Xác định khoảng tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic

Pha một dãy dung dịch chuẩn lycorin ở các nồng độ thích hợp. Tiến hành sắc ký như điều kiện đã lựa chọn. Xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ lycorin trong các dung dịch chuẩn.

Khảo sát độ chính xác (độ lặp lại và độ chính xác trung gian) của phương pháp

Tiến hành định lượng lặp lại trên 6 mẫu thử độc lập, thực hiện trên 2 ngày khác nhau và 2 người định lượng khác nhau với cách tiến hành và điều kiện sắc ký như trên. Tính RSD của kết quả định lượng. Yêu cầu: $RSD \leq 3,7\%$ (mức khuyến cáo của AOAC ở mức hàm lượng từ 0,1% đến dưới 1%)^[5].

Khảo sát độ đúng của phương pháp

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng phương pháp thêm chuẩn vào

mẫu thử 50% bằng cách thêm một lượng chất chuẩn vào mẫu thử và pha loãng gấp đôi bằng dung môi chiết mẫu thu được mẫu thử 50% thêm chuẩn. Tại mỗi mức thêm chuẩn thực hiện trên 3 mẫu độc lập. Tiến hành xử lý mẫu và phân tích theo quy trình. Song song tiến hành một mẫu nền (khoảng 0,2000 g cao đặc). Xác định tỷ lệ (%) lycorin thêm tìm lại được so với lượng thêm vào (tỷ lệ thu hồi). Yêu cầu: Tỷ lệ thu hồi ở cả 3 mức thêm chuẩn đều nằm trong khoảng 95 - 105% (mức khuyến cáo của AOAC ở mức hàm lượng từ 0,1% đến dưới 1%)^[5].

Ứng dụng định lượng lycorin trong cao đặc nắng hoa trắng

Sử dụng phương pháp đã xây dựng để định lượng lycorin trong một số mẫu cao đặc nắng hoa trắng.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

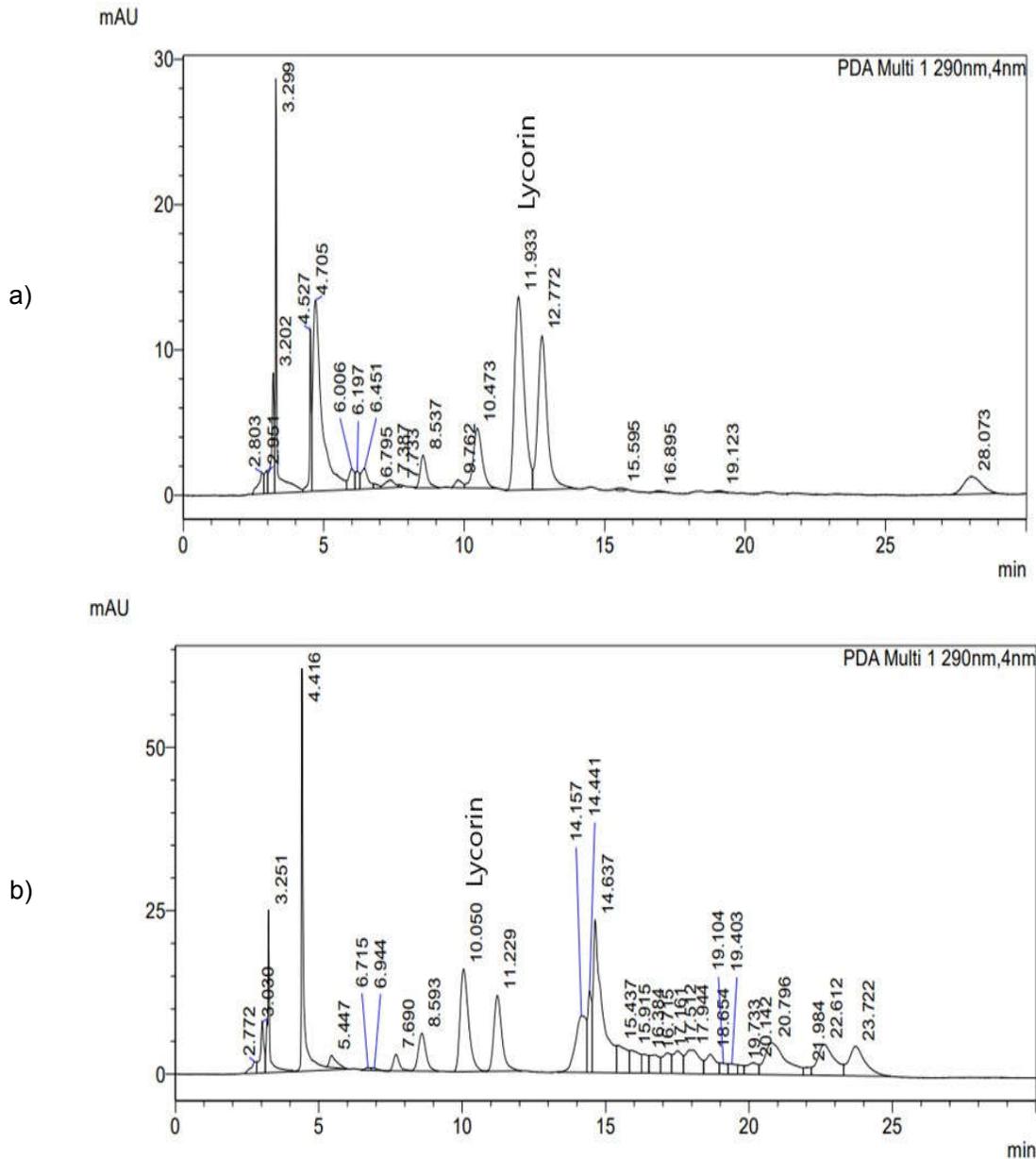
3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký và phương pháp chiết mẫu định lượng

Khảo sát pha động

Mẫu thử và mẫu chuẩn lycorin (nồng độ 75,92 $\mu\text{g/ml}$) được phân tích với hệ dung môi gồm acetonitril (pha động A) và acid orthophosphoric 0,1% (pha động B) theo tỷ lệ A:B là 4:96; 5:95; 6:94 (v/v). Sắc ký đồ cho thấy pic lycorin có thời gian lưu khoảng 12 phút, tuy nhiên không tách được khỏi các chất khác và phần đuôi của pic lycorin vẫn còn dính với pic khác (hình 1a).

Do đó, các chương trình rửa giải gradient đã được khảo sát với tỷ lệ pha động A thay đổi từ 5% đến 15% trong thời gian 30 phút. Chúng tôi đã lựa chọn được chương trình rửa giải gradient cho pic lycorin có thời gian lưu khoảng 10 phút, tách biệt rõ ràng với các pic khác và phần đuôi pic gọn (hình 1b).

Chương trình rửa giải gradient được lựa chọn như sau: 0 – 8 phút: 5% A; 8 – 9 phút: 5 – 15% A; 9 – 19 phút: 15% A; 19 – 20 phút: 15 – 5% A; 20 – 30 phút: 5% A.



Hình 1. Sắc ký đồ của hai chương trình pha động

a) Tỷ lệ pha động A:B là 4:96 (v/v); b) Chương trình rửa giải gradient.

Khảo sát nhiệt độ cột

Mẫu được phân tích tại các nhiệt độ cột 20°C, 30°C và 40°C, thu được thời gian lưu của lycorin lần lượt là 10,944 phút, 10,709

phút và 10,29 phút, cho thấy sự chênh lệch không đáng kể. Tuy nhiên, ở nhiệt độ cột 40°C, pic lycorin tách rõ nhất nên được lựa chọn làm điều kiện định lượng.

Khảo sát tốc độ dòng

Triển khai sắc ký với các tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, 1 ml/phút, 1,2 ml/phút cho thấy với tốc độ dòng 0,8 ml/phút cho pic lycorin có thời gian lưu khoảng 12,5 phút có diện tích lớn, pic tách rõ, số đĩa lý thuyết lớn nhất được lựa chọn làm điều kiện định lượng.

Khảo sát dung môi chiết

Cân chính xác khoảng 0,2000 g cao đặc nắng hoa trắng, chiết siêu âm trong 30 phút với 25 ml methanol ở ba nồng độ: 50%, 70% và 100%. Định lượng mẫu bằng HPLC với các điều kiện sắc ký đã chọn.

Kết quả diện tích pic lycorin tính trên 0,2000 g cao đặc tương ứng với các nồng độ methanol 50%, 70% và 100% lần lượt là: 471296; 475962 và 313630 (mAU.s). Dung môi methanol 70% cho diện tích pic lycorin lớn nhất nên được lựa chọn làm dung môi chiết.

Khảo sát thời gian chiết

Cân chính xác khoảng 0,2000 g cao đặc nắng hoa trắng, chiết siêu âm với 25 ml methanol 70% trong các thời gian 15 phút, 30 phút, 45 phút và 60 phút. Định lượng mẫu bằng HPLC với các điều kiện sắc ký đã chọn.

Kết quả diện tích pic lycorin tính trên 0,2000 g cao chiết với thời gian chiết 15, 30, 45 và 60 phút lần lượt là: 444567; 431048; 453591 và 457907 (mAU.s).

Thời gian chiết 15 phút và 30 phút cho diện tích pic thấp hơn so thời gian chiết 45 phút và 60 phút. Thời gian chiết 45 phút cho diện tích pic lycorin thấp hơn không đáng kể so với thời gian chiết 60 phút, do đó 45 phút là thời gian được lựa chọn để chiết xuất cao đặc nắng hoa trắng.

Từ kết quả khảo sát trên, quy trình định lượng được xây dựng như sau:

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị như phần phương pháp nghiên cứu.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2000 g cao đặc nắng hoa trắng vào bình

nón có nút mài 50 ml, thêm chính xác 25 ml methanol 70%, cân, siêu âm trong 45 phút. Để nguội, cân lại, bổ sung khối lượng mất đi bằng methanol 70%. Lắc đều, lọc qua màng lọc syringe 0,45 µm thu được dung dịch thử để tiêm sắc ký.

Điều kiện sắc ký

- Pha tĩnh: Cột sắc ký C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm).

- Pha động: Gồm acetonitril (dung môi A) và acid orthophosphoric 0,1% (dung môi B) theo chương trình rửa giải gradient: 0 – 8 phút: 5% A; 8 – 9 phút: 5 – 15% A; 9 – 19 phút: 15% A; 19 – 20 phút: 15 – 5% A; 20 – 30 phút: 5% A.

- Tốc độ dòng: 0,8 ml/phút.

- Nhiệt độ cột: 40°C.

- Thể tích tiêm mẫu: 10 µl.

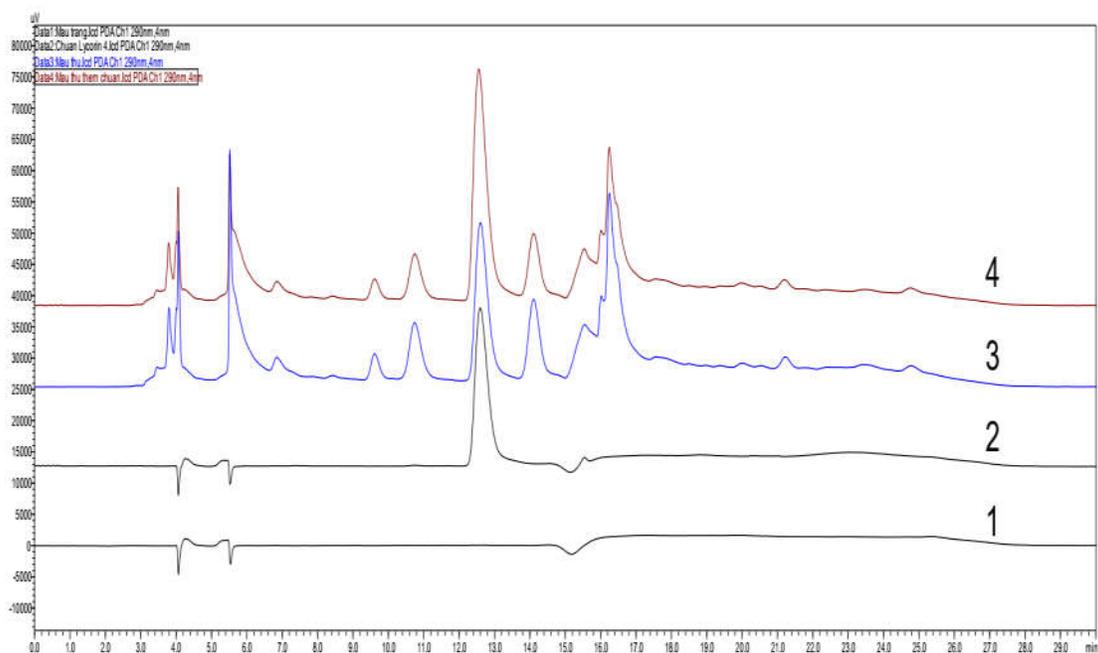
- Bước sóng phát hiện: 290 nm.

Tiến hành tiêm mẫu, triển khai sắc ký và tính kết quả như phần phương pháp nghiên cứu.

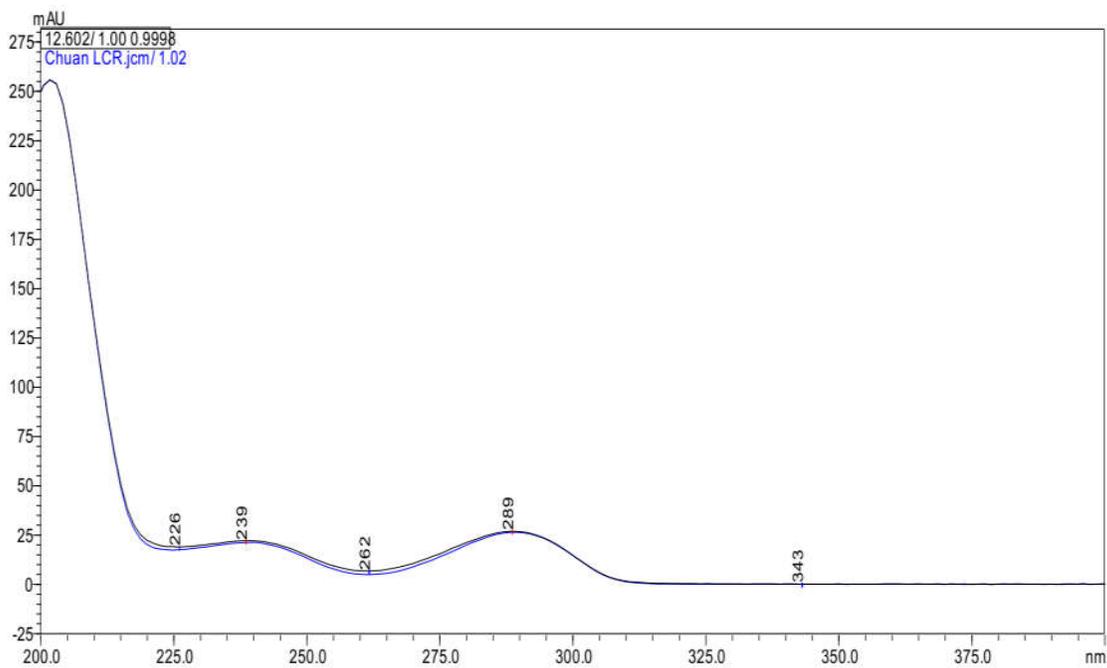
3.2. Thẩm định quy trình định lượng

Tính đặc hiệu của phương pháp

Kết quả được trình bày ở hình 2 cho thấy trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch thử thêm chuẩn cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn. Các pic trên sắc ký đồ của mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn tách nhau hoàn toàn, lycorin được phát hiện ở thời gian lưu khoảng 12,5 phút, tách hoàn toàn khỏi các pic khác, pic cân đối, độ rộng chân pic nhỏ. Trong khi đó, trên sắc ký đồ của mẫu placebo không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn lycorin. Mặt khác, so sánh phổ giữa pic mẫu thử và mẫu chuẩn (hình 3) cho kết quả hệ số chồng phổ đạt 0,9998 với hấp thụ cực đại ở bước sóng 289 nm. Do đó, phương pháp đảm bảo độ chọn lọc, đặc hiệu.



Hình 2. Sắc ký đồ các mẫu nghiên cứu
 1: Dung môi; 2: Chất chuẩn lycorin, 3: Mẫu thử, 4: Mẫu thử thêm chuẩn.



Hình 3. So sánh phổ UV của mẫu thử và mẫu chuẩn lycorin

Tính tương thích của hệ thống

Tiến hành lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn lycorin nồng độ 75,92 µg/ml, ghi lại các giá trị về thời gian lưu, diện tích pic. Độ thích hợp của hệ thống được trình bày ở bảng 1 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic (0,46%) và thời gian lưu (0,12%) của

lycorin đều nhỏ hơn 2%, số đĩa lý thuyết trung bình 5739 với độ lệch chuẩn tương đối 0,46%. Như vậy, các điều kiện sắc ký đã lựa chọn có độ lặp lại tốt về thời gian lưu và diện tích pic của lycorin và hệ thống HPLC sử dụng là phù hợp và đảm bảo độ ổn định của phép phân tích định lượng lycorin.

Bảng 1. Kết quả độ thích hợp hệ thống (n = 6)

	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAU.s)	Số đĩa lý thuyết
Trung bình	12,581	658083	5739
RSD (%)	0,12	0,46	0,46

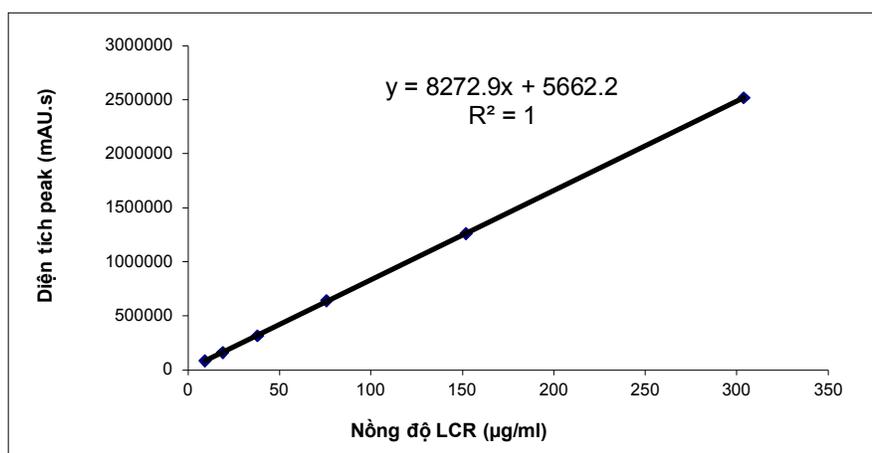
Xác định khoảng tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic

Kết quả độ tuyến tính được trình bày ở bảng 2 và hình 4 cho thấy trong khoảng nồng độ khảo sát từ 9,49 µg/ml đến 303,69 µg/ml

có sự phụ thuộc tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ lycorin với hệ số tương quan $r = 1$ cho thấy đường chuẩn được xây dựng có độ tuyến tính cao đảm bảo để thực hiện phép phân tích định lượng lycorin.

Bảng 2. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính định lượng lycorin

Nồng độ lycorin (µg/ml)	9,49	18,98	37,96	75,92	151,85	303,69
Diện tích pic (mAU.s)	81447	163413	315495	639821	1264038	2516022
Phương trình hồi quy	$y = 8272,9x + 5662,2$					
Hệ số tương quan (r)	1					



Hình 4. Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ và diện tích pic của lycorin

Khảo sát độ chính xác của phương pháp

Kết quả độ lặp lại trong ngày và khác ngày được trình bày ở bảng 3 cho thấy giá

trị RSD của mỗi ngày định lượng và của cả 2 ngày đều < 3,7%. Như vậy, phương pháp có độ lặp lại cao, ổn định, đạt yêu cầu về độ lặp lại và độ chính xác trung gian.

Bảng 3. Độ lặp lại và độ chính xác trung gian

	Ngày 1 (n = 6)	Ngày 2 (n = 6)	2 ngày (n = 12)
<i>Hàm lượng lycorin trung bình (%)</i>	0,91	0,89	0,90
<i>RSD (%)</i>	2,10	1,22	1,99

Khảo sát độ đúng của phương pháp

Kết quả độ đúng được trình bày ở bảng 4 cho thấy tỷ lệ thu hồi ở mỗi mức nồng độ từ 99,39% đến 101,05% đều nằm trong

khoảng 95 - 105% chứng tỏ phương pháp HPLC đã chọn đảm bảo độ đúng để định lượng lycorin.

Bảng 4. Kết quả độ đúng của phương pháp (n = 3)

Mức nồng độ (% so với mẫu thử)	Lượng chuẩn thêm vào ($\mu\text{g/ml}$)	Lượng chuẩn thêm tìm lại (trung bình, $\mu\text{g/ml}$)	Tỷ lệ thu hồi (trung bình, %)	RSD (%)
80	23,29	23,26	99,85	1,49
100	38,82	38,58	99,39	1,21
120	54,35	54,92	101,05	0,68

Định lượng lycorin trong các mẫu cao đặc

Chuẩn bị các dung dịch mẫu thử (cao đặc nắng hoa trắng) và tiến hành sắc ký trong điều kiện như đã mô tả trên 9 mẫu cao. Kết quả hàm lượng lycorin trong cao đặc nắng hoa trắng được trình bày ở bảng 5 cho thấy hàm lượng lycorin trong các mẫu cao dao động từ 0,72% đến 1,08%.

Bảng 5. Hàm lượng lycorin trong các mẫu cao đặc nắng hoa trắng

Mẫu	Hàm lượng lycorin (%)
1	1,03
2	0,98
3	0,99
4	1,01
5	1,08
6	1,07
7	0,96
8	0,72
9	0,90

4. KẾT LUẬN

Phương pháp định lượng lycorin trong cao đặc nắng hoa trắng bằng HPLC đã được xây dựng: Cột phân tích C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, nhiệt độ cột: 40°C, pha động acetonitril : acid orthophosphoric 0,1% (chương trình gradient). Phương pháp phân tích có độ nhạy cao, có tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính từ 9,49 μ g/ml đến 303,69 μ g/ml ($r = 1$), độ lặp lại và độ chính xác trung gian tốt (RSD < 3,7%), độ đúng cao (tỷ lệ phục hồi 99,39% đến 101,05%). Hàm lượng lycorin trong cao đặc nắng hoa trắng từ 0,72% đến 1,08%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y học, Hà Nội.
2. Roy M. et al. (2018), "Lycorine: A prospective natural lead for anticancer drug discovery", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, pp. 615 - 624.

3. Emir C. et al. (2018), "Quantitative analysis of lycorine in *Galanthus alpinus* Sosn. var. *alpinus* by HPLC-DAD", *Istanbul J. Pharm.*, 48(2), pp. 32 - 37.

4. Bùi Lê Thanh Nhân et al. (2020), "Nghiên cứu hàm lượng lycorin của cây sâm cau *Curculigo orchioides* Gaertn bằng kỹ thuật HPLC-FC", *Tài liệu Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc năm 2020*, tr. 244 - 249.

5. AOAC (2016), "Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements", *AOAC International*, Rockville, MD, USA.

6. ICH (2022), "ICH harmonised guideline. Validation of analytical procedures Q2(R2)", *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*.