

Nghiên cứu xác định hàm lượng 10-Deacetylbaaccatin III trong lá thông đỏ bằng phương pháp HPLC-PDA

Đào Thị Cẩm Minh¹, Phan Phước Thắng¹, Nguyễn Việt Khẩn¹, Đặng Công Thuận²,
Trần Hữu Dũng¹, Nguyễn Hữu Tiến^{1*}

¹Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

²Bộ môn Mô phôi, Giải phẫu bệnh và Phẫu y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Hữu Tiến | Email: nhtien@huemed-univ.edu.vn |

Ngày nhận bài (Received): 09/09/2026

Ngày duyệt đăng (Accepted): 08/10/2026

Xuất bản trực tuyến (Published online): 10/2026

Tóm tắt

Đặt vấn đề: 10-deacetylbaaccatin III chiết xuất từ các loại cây Thông đỏ thuộc chi *Taxus* chính là nguyên liệu đầu vào quan trọng nhất để bán tổng hợp paclitaxel và docetaxel.

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm xây dựng, thẩm định phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao và áp dụng để xác định hàm lượng 10-deacetylbaaccatin III trong lá Thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) thu hái tại tỉnh Lâm Đồng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Mẫu lá Thông đỏ được thu thập tại Lâm Đồng, được chiết xuất bằng methanol-nước (9:1), lựa chọn chương trình sắc ký phù hợp và thẩm định phương pháp theo AOAC.

Kết quả: Phương pháp định lượng được tiến hành sắc ký với cột C18, pha động acetonitril-dung dịch trifluoroacetic acid 0,1% (30:70, v/v). Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đạt độ đặc hiệu cao, độ chính xác phù hợp (RSD < 2,1%), độ đúng 98,63 - 103,86%. Hàm lượng 10-deacetylbaaccatin III trong hai mẫu lá Thông đỏ tính theo lượng khô kiệt là 2,58-2,72 mg/g.

Kết luận: Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đã xây dựng đáp ứng các tiêu chí thẩm định được khảo sát và có thể sử dụng để định lượng 10-deacetylbaaccatin III trong lá Thông đỏ.

Từ khóa: 10-Deacetylbaaccatin III (10-DAB III), *Taxus wallichiana* Zucc., HPLC-PDA.

Determination of 10-deacetylbaaccatin III content in *Taxus wallichiana* Zucc. leaves by HPLC-PDA

Dao Thi Cam Minh¹, Phan Phuoc Thang¹, Nguyen Viet Khan¹, Dang Cong Thuan²,
Tran Huu Dung¹, Nguyen Huu Tien^{1*}

¹Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

²Department of Histology-Embryology, Pathology and Forensic, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Abstract

Background: 10-deacetylbaaccatin III (10-DAB III) extracted from *Taxus* species is an important precursor for the semi-synthesis of the anticancer drugs paclitaxel and docetaxel.

Objectives: Therefore, this study was conducted to develop an HPLC method for the quantification of 10-DAB III in *Taxus wallichiana* Zucc. samples.

Materials and Methods: Leaf samples of *T. wallichiana* were collected in Lam Dong province and extracted with methanol-water (9:1, v/v). Suitable chromatographic conditions were selected, and the method was validated in accordance with AOAC guidelines.

Results: Chromatographic separation was achieved on a C18 column using a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.1% aqueous trifluoroacetic acid (30:70, v/v). The HPLC method demonstrated specificity, with relative standard deviations (RSDs) below 2.1% and recoveries ranging from 98,63 to 103,86%. The 10-DAB III content in the two leaf samples ranged from 2.58 to 2.72 mg/g on a dry-weight basis.

Conclusion: The developed HPLC-PDA method met the evaluated validation criteria and was suitable for quantifying 10-DAB III in *T. wallichiana* leaves.

Keywords: 10-Deacetylbaaccatin III (10-DAB III), *Taxus wallichiana* Zucc., HPLC-PDA.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoạt chất 10-deacetylbaaccatin III (10-DAB III) là một taxoid tự nhiên có trong cây Thông đỏ (*Taxus* spp.) và là nguyên liệu quan trọng trong quá trình bán tổng hợp các thuốc chống ung thư thuộc nhóm taxan, đặc biệt là paclitaxel và docetaxel. 10-DAB III hiện diện ở nhiều mô của các loài *Taxus*, bao gồm lá, cành, vỏ và rễ. Lá thường được sử dụng làm nguồn nguyên liệu thu nhận 10-DAB III do có hàm lượng đáng kể, sinh khối có thể tái tạo và việc thu hái ít gây tổn hại cây [1][2]. Do đó, việc xác định hàm lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ có ý nghĩa trong đánh giá chất lượng, lựa chọn nguồn nguyên liệu và kiểm soát quá trình khai thác, sử dụng dược liệu.

Các nghiên cứu trước về Thông đỏ chủ yếu tập trung vào kỹ thuật nuôi cấy nhân sinh khối tế bào [1], [6], đánh giá hiệu suất của các phương pháp chiết xuất [4], phân lập định hướng thiết lập chất đối chiếu [3], và khảo sát sự biến động hàm lượng theo sinh thái học [2]. Trong công tác phân tích và kiểm soát chất lượng, mặc dù kỹ thuật sắc ký lỏng ghép nối hai lần khối phổ (LC-MS/MS) cho độ nhạy và độ chọn lọc cao [5], nhưng chi phí đầu tư thiết bị lớn làm hạn chế khả năng triển khai kiểm nghiệm thường quy. Ngược lại, sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) kết hợp đầu dò PDA là phương pháp phổ biến, phù hợp với điều kiện thực tế của đa số các phòng thí nghiệm tại Việt Nam hiện nay.

Tuy nhiên, lá Thông đỏ là một nền mẫu phức tạp chứa nhiều hợp chất taxoid có cấu trúc tương đồng. Trong các nghiên cứu trước đây [1], [3], [4], phương pháp HPLC chủ yếu được sử dụng như một công cụ để đánh giá hiệu suất chiết xuất hoặc độ tinh khiết. Việc sử dụng các hệ pha động thông thường còn hiện tượng nhiễu nền, khiến pic 10-DAB III dễ bị kéo đuôi và chồng lấp, dẫn đến sai số trong định lượng. Vì vậy, việc xây dựng một phương pháp HPLC-PDA phù hợp để định lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ có ý nghĩa thực tiễn đối với kiểm soát chất lượng và chuẩn hóa nguồn nguyên liệu.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng 10-deacetylbaaccatin III trong lá Thông đỏ bằng HPLC-PDA, đồng thời ứng dụng phương pháp để xác định hàm lượng 10-DAB III trong một số mẫu lá Thông đỏ thu thập tại tỉnh Lâm Đồng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các mẫu lá cây Thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) được thu hái tại tỉnh Lâm Đồng vào tháng 5-7/2026.

Chất chuẩn: 10-deacetylbaaccatin III (hàm lượng 98,0%), hãng ChemFaces, Trung Quốc.

Hoá chất: acetonitril, methanol, trifluoroacetic acid dùng cho HPLC; nước cất 2 lần đạt tiêu chuẩn phân tích.

Thiết bị: Hệ thống HPLC Shimadzu LC-20A, kết nối detector PDA. Cột Zorbax C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm), cột bảo vệ C18 (10 mm × 4,6 mm; 5 µm), nhiệt độ cột theo nhiệt độ phòng.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Thân cành lá của loài Thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) được thu thập tại Tổ 1 Lộc Quý, phường Xuân Trường - Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 7 năm 2026. Tên loài thực vật đã được xác định bởi Tiến sĩ Lê Tuấn Anh (Phân viện Công nghệ tiên tiến Miền Trung, Viện Công nghệ tiên tiến, VAST, Việt Nam). Mẫu đã được định danh (Ký hiệu: TD3 và TD4) hiện được lưu giữ tại Khoa Dược, Trường Đại học Y-Dược Huế, Đại học Huế, Việt Nam.

2.3. Xây dựng phương pháp định lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ bằng HPLC-PDA

Quy trình xử lý mẫu thử: Mẫu lá Thông đỏ khô được xay nhỏ đồng nhất, cân chính xác khoảng 0,1 g mẫu bột vào ống falcon 15 mL, thêm 2 mL hỗn hợp methanol - nước (9 : 1, v/v), lắc xoáy 1 phút, siêu âm 30 phút ở 60 °C. Sau đó ly tâm 4000 vòng/phút trong 5 phút. Lọc lấy dịch bằng màng lọc 0,45 µm, cho vào vial rồi tiến hành chạy sắc ký HPLC.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg 10-DAB III chuẩn pha trong bình định mức 10 mL, thêm methanol vừa đủ được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1000 µg/mL. Dung dịch chuẩn thứ cấp được pha bằng cách hút chính xác 5 mL dung dịch chuẩn gốc, thêm methanol vừa đủ trong bình định mức 10 mL. Từ dung dịch chuẩn thứ cấp, tiến hành chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn với các mức nồng độ 12,5; 50; 100; 125 và 250 µg/mL.

Khảo sát chương trình sắc ký: dung môi pha động đẳng dòng hoặc gradient, tốc độ dòng, cột sắc ký và bước sóng phát hiện 10-DAB III. Trong đó, khảo sát các hệ dung môi đẳng dòng với hệ dung môi acetonitril (ACN) – nước (H₂O) theo các tỷ lệ thể tích ACN – H₂O theo gradient [1], [3], [4], [6]; bước sóng phát hiện [1], [3], [4].

Thẩm định quy trình: theo hướng dẫn của AOAC [7] gồm độ đặc hiệu, tính tuyến tính, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng, độ đúng, độ chính xác. Áp dụng phương pháp định lượng trên một số mẫu Thông đỏ thu hái.

2.4. Xác định hàm lượng 10-DAB III trong một số mẫu lá Thông đỏ thu hái tại tỉnh Lâm Đồng

Các mẫu lá Thông đỏ (ký hiệu: TD3 và TD4) được thu hái trên địa bàn tỉnh Lâm Đồng và đã được giám định thực vật, xác định thuộc loài *Taxus wallichiana* Zucc. Sau khi thu thập, các mẫu vật được tiến hành sấy khô và xác định hàm ẩm bằng phương pháp sấy cân. Sau đó, mẫu khô được sử dụng chiết xuất và xác định hàm lượng 10-DAB III bằng phương pháp HPLC được xây dựng.

Hàm lượng 10-DAB III trong mẫu, tính theo lượng khô kiệt, được xác định theo công thức bên dưới:

$$HL \text{ (mg/g)} = \frac{C \times V \times f}{1000 \times m} \times \frac{100}{100 - W}$$

Trong đó:

HL: hàm lượng 10-DAB III tính theo lượng khô kiệt (mg/g);

C: nồng độ 10-DAB III trong dung dịch mẫu thử (µg/mL);

V: thể tích cuối của dịch chiết mẫu (mL);

f: hệ số pha loãng của dung dịch mẫu thử;

m: khối lượng mẫu đem phân tích (g);

W: độ ẩm của mẫu (%).

3. KẾT QUẢ

3.1. Hình thái và định danh mẫu Thông đỏ thu hái tại Lâm Đồng



Hình 1. Mẫu lá và cành cây Thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.)

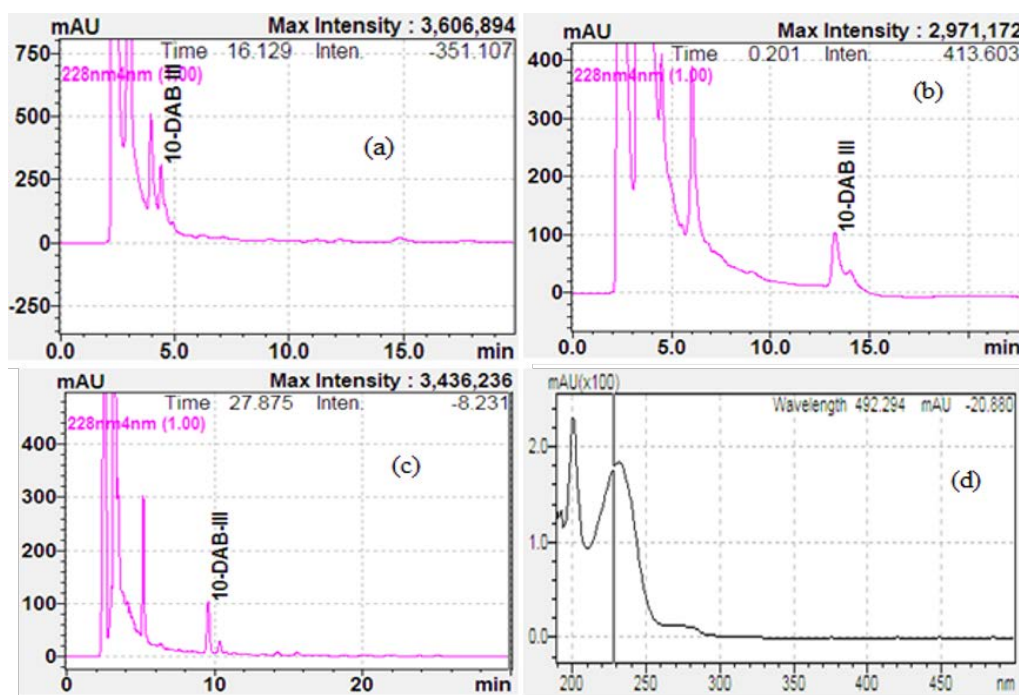
Mẫu vật nghiên cứu được thu thập tại Lâm Đồng, phiên lá có kích thước lá nhỏ, dài từ 2,0 đến 3,5 cm, rộng 2 – 4 mm, gốc lá hẹp dần, cuống lá ngắn, xoắn nhẹ, đỉnh lá có mũi nhọn nhỏ, ở mặt dưới phiên lá có 2 dải khí khổng, không phủ lớp phấn trắng. Cách xếp lá mọc xoắn

ốc nhưng vắn ở gốc xoè ra nằm trên một mặt phẳng, như chiếc lông chim. Với các hình ảnh ghi nhận thực địa, ảnh chụp từ người dân theo dõi cây có quả màu đỏ đặc trưng, có lớp vỏ cây màu nâu đến nâu xám, bong tróc thành từng mảng lớn. Qua nghiên cứu tài liệu chuyên ngành, sử dụng phương pháp hình thái so sánh, chúng tôi xác nhận đây là loài Thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) thuộc Họ Thông đỏ (Taxaceae).

3.2. Xây dựng phương pháp định lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ bằng HPLC

3.2.1. Khảo sát các điều kiện sắc ký của quy trình định lượng 10-DAB III bằng HPLC

Các hệ pha động ACN – H₂O được khảo sát nhằm lựa chọn điều kiện phân tách phù hợp cho 10-DAB III tham khảo các tài liệu [1], [3], [4], [6]. Với hệ ACN – H₂O (40:60, v/v), pic chuẩn 10-DAB III có thời gian lưu 4,5 phút, tuy nhiên pic tương ứng trong mẫu thử chưa được phân tách hoàn toàn (Hình 2a). Khi sử dụng hệ ACN – H₂O (30:70, v/v), thời gian lưu của pic chuẩn là 9,6 phút nhưng pic trong mẫu thử có hiện tượng kéo đuôi.



Hình 2. Khảo sát điều kiện sắc ký (a) pha động ACN–H₂O (40:60); (b) pha động ACN–H₂O theo chương trình gradient; (c) pha động ACN–dung dịch TFA 0,1% (30:70) tốc độ dòng 1,0 mL/phút; (d) Phổ UV của 10-DAB III.

Đối với hệ pha động ACN- H₂O rửa giải gradient với việc thay đổi tỷ lệ ACN như sau từ 0 – 8 phút: 20% ACN; từ 8 – 9 phút: từ 20% xuống 10% ACN; từ 9 – 50 phút: 10% ACN. Tuy nhiên, chương trình gradient chưa cải thiện đáng kể khả năng phân tách; pic 10-DAB III trong mẫu thử vẫn chưa được phân tách hoàn toàn và có hiện tượng kéo đuôi (Hình 2b).

Trên cơ sở kết quả khảo sát, hệ pha động ACN – H₂O (30:70, v/v) được tiếp tục điều chỉnh bằng cách bổ sung trifluoroacetic acid (TFA) 0,1% vào pha nước. Hệ ACN – dung dịch TFA 0,1% trong nước (30:70, v/v) cho pic 10-DAB III gọn và phân tách hoàn toàn trong mẫu thử, do đó được lựa chọn cho phương pháp (Hình 2c).

Với pha động đã lựa chọn, tốc độ dòng được khảo sát tại 0,8 và 1,0 mL/phút. Thời gian lưu của 10-DAB III tương ứng lần lượt là 17,1 và 9,6 phút. Tốc độ dòng 1,0 mL/phút được lựa chọn do cho thời gian phân tích phù hợp hơn (Hình 2c).

Theo các tài liệu đã công bố, 10-DAB III thường được phát hiện trong khoảng bước sóng 227 – 232 nm. Kết quả khảo sát phổ hấp thụ bằng detector PDA cho thấy 10-DAB III có cực đại hấp thụ tại 228 nm trong điều kiện thực nghiệm. Vì vậy, bước sóng 228 nm được lựa chọn để định lượng (Hình 2d).

Từ các kết quả khảo sát trên, điều kiện sắc ký được lựa chọn gồm: cột Zorbax C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm), cột bảo vệ C18 (10 × 4,6 mm; 5 µm), pha động ACN – dung dịch TFA 0,1% trong nước (30:70, v/v), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, thể tích tiêm 10 µL, bước sóng phát hiện 228 nm và thời gian phân tích 30 phút.

3.2.2. Thẩm định phương pháp định lượng đã xây dựng

3.2.2.1. Tính phù hợp hệ thống

Tiến hành tiêm sắc ký lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn chứa 10-DAB III nồng độ 126,66 µg/mL vào hệ thống HPLC với các điều kiện đã xây dựng. Kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

Độ lệch chuẩn tương đối (relative standard deviation, RSD) của thời gian lưu và diện tích pic 10-DAB III đều < 2%; số đĩa lý thuyết (N) > 2.000. Các kết quả này cho thấy hệ thống HPLC và điều kiện sắc ký đã lựa chọn phù hợp để định lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ [7].

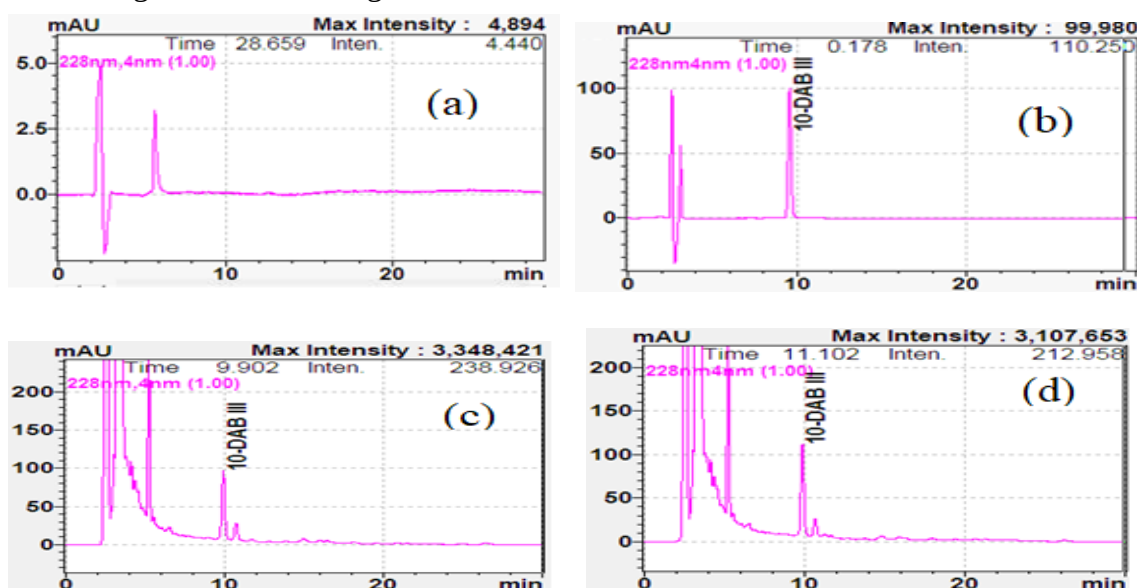
Bảng 1. Khảo sát tính phù hợp của hệ thống sắc ký

Lần tiêm	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAU.s)	Hệ số kéo đuôi (Tr)	Số đĩa lý thuyết (N)
Lần 1	9,548	1.277.941	1,122	12.494
Lần 2	9,550	1.274.872	1,123	12.533
Lần 3	9,543	1.283.594	1,125	12.528
Lần 4	9,794	1.277.875	1,094	12.506
Lần 5	9,808	1.282.957	1,092	12.511
Lần 6	9,818	1.283.836	1,087	12.507
Trung bình	9,677	1.280.179	1,107	12.513
RSD (%)	1,472	0,295	1,615	0,117

3.2.2.2. Độ đặc hiệu

Độ đặc hiệu của phương pháp được đánh giá trên dung môi chiết mẫu, dung dịch chuẩn 10-DAB III, dung dịch thử và dung dịch thử thêm chuẩn. Sắc ký đồ được trình bày trong Hình 3.

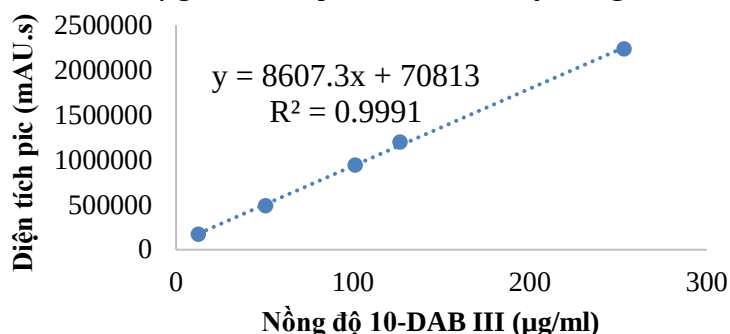
Trên sắc ký đồ dung môi chiết không ghi nhận pic tại thời gian lưu của 10-DAB III. Dung dịch chuẩn cho pic 10-DAB III rõ, cân đối tại thời gian lưu khoảng 9,6 phút. Mẫu thử xuất hiện pic tại vị trí tương ứng với pic chuẩn, trong khi mẫu thử thêm chuẩn cho pic tại cùng thời gian lưu với đáp ứng tăng so với mẫu thử. Kết quả cho thấy không có sự can nhiễu đáng kể của dung môi và nền mẫu tại vị trí pic 10-DAB III, chứng minh phương pháp có độ đặc hiệu phù hợp để định lượng 10-DAB III trong mẫu thử.



Hình 3. Độ đặc hiệu của phương pháp với sắc ký đồ của (a) Dung môi chiết mẫu, (b) Dung dịch chuẩn 10-DAB III, (c) Dung dịch thử, (d) Dung dịch thử thêm chuẩn 10-DAB III.

3.2.2.3. Khoảng nồng độ tuyến tính

Tiến hành phân tích 10-DAB III với các dung dịch chuẩn pha loãng tại các nồng độ 12,67; 50,67; 101,3; 126,66 và 253,3 µg/mL, kết quả được trình bày trong Hình 4.



Hình 4. Biểu đồ thể hiện khoảng nồng độ tuyến tính của 10-DAB III

Đường biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ chất phân tích và diện tích pic tương ứng được phương trình hồi quy là $y = 8607,3x + 70813$ ($R^2 = 0,9991$). Hệ số tương quan $R^2 > 0,99$, cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ hoạt chất trong khoảng 12,67 – 253,3 µg/mL với diện tích pic đáp ứng.

3.2.2.4. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Tiến hành phân tích các mẫu chuẩn chứa 10-DAB III có nồng độ giảm dần. Giá trị giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) được xác định bằng tỷ số tín hiệu/nhiều nền (S/N). LOD là nồng độ mà tại đó $S/N = 3$, LOQ là nồng độ mà tại đó $S/N = 10$. LOD và LOQ của 10-DAB III lần lượt là 1,10 µg/mL và 3,50 µg/mL.

3.2.2.5. Độ đúng

Độ đúng được xác định bằng cách thêm chuẩn ở ba mức thêm chuẩn danh định 20%, 40% và 60%, tương ứng với lượng chuẩn thêm vào bằng 18,47%, 36,94% và 55,42% so với lượng hoạt chất trong nền mẫu TD3. Lượng sẵn có được xác định từ mẫu TD3 không thêm chuẩn; lượng thêm vào được tính bằng nồng độ dung dịch chuẩn nhân với thể tích chuẩn thêm. Phân tích lặp lại 3 lần ở mỗi mức nồng độ. Độ thu hồi được tính theo công thức: Tỷ lệ thu hồi = $[(\text{Lượng tìm thấy} - \text{lượng sẵn có}) / \text{lượng thêm vào}] \times 100\%$.

Kết quả cho thấy độ thu hồi của 10-DAB III dao động trong khoảng 98,63 – 103,86%. Độ đúng của phương pháp đạt yêu cầu của AOAC [7].

Bảng 2. Khảo sát độ đúng của phương pháp

Mức thêm chuẩn (%)	Lượng thêm vào (µg)	Lượng sẵn có (µg)	Tỷ lệ thu hồi (%)	TB ± SD (%)
20	7,755	41,983	101,74	103,86 ± 1,87
	7,755	41,983	105,28	
	7,755	41,983	104,56	
40	15,510	41,983	98,83	98,63 ± 0,38
	15,510	41,983	98,86	
	15,510	41,983	98,18	
60	23,265	41,983	102,29	100,05 ± 3,60
	23,265	41,983	101,97	
	23,265	41,983	95,91	

3.2.2.6. Độ chính xác

Độ chính xác được đánh giá qua độ lặp lại trong ngày và độ chính xác trung gian, mỗi điều kiện gồm 6 mẫu thử độc lập. Hàm lượng 10-DAB III trung bình trong ngày và khác ngày lần lượt là $2,74 \pm 0,06$ mg/g và $2,77 \pm 0,05$ mg/g, với RSD tương ứng 2,09% và 1,73%. Các giá trị RSD đều nhỏ hơn giới hạn chấp nhận 3,7%.

Bảng 3. Khảo sát độ chính xác của phương pháp

Chỉ tiêu	Trong ngày	Khác ngày
Số mẫu (n)	6	6
Khoảng hàm lượng (mg/g)	2,65 – 2,82	2,71 – 2,82
Trung bình $\pm$ SD (mg/g)	2,74 $\pm$ 0,06	2,77 $\pm$ 0,05
RSD (%)	2,09	1,73

Phép kiểm *t*-test cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa kết quả định lượng trong ngày và khác ngày ($p > 0,05$). Kết quả cho thấy phương pháp đạt yêu cầu về độ chính xác theo yêu cầu của AOAC [7].

3.3. Xác định hàm lượng một số mẫu Thông đỏ thu hái tại tỉnh Lâm Đồng

Phương pháp HPLC-PDA đã xây dựng được áp dụng để định lượng 10-DAB III trong hai mẫu lá Thông đỏ. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Hàm lượng 10-DAB III trong hai mẫu lá Thông đỏ khảo sát dao động từ 2,58 – 2,72 mg/g, tương ứng 0,26 – 0,27% (tính trên mẫu khô kiệt). Kết quả cho thấy phương pháp có thể áp dụng để xác định hàm lượng 10-DAB III trong mẫu lá Thông đỏ.

Bảng 4. Kết quả định lượng 10-DAB III trong các mẫu lá Thông đỏ

Mẫu	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng 10-DAB III TB $\pm$ SD (mg/g)
TD3	6,49	2,72 $\pm$ 0,06
TD4	6,25	2,58 $\pm$ 0,05

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, pha động ACN – dung dịch TFA 0,1% trong nước (30:70, v/v) được lựa chọn sau khi khảo sát điều kiện sắc ký. So với hệ ACN – H₂O không bổ sung acid, hệ pha động này giúp cải thiện hình dạng và khả năng phân tách pic 10-DAB III. Bước sóng phát hiện 228 nm được lựa chọn phù hợp với cực đại hấp thụ của chất phân tích ghi nhận trong thực nghiệm.

Nghiên cứu của Hứa Hoàng Oanh xây dựng phương pháp HPLC-PDA trên cột Phenomenex C18 (250 $\times$ 4,6 mm; 5 μ m), sử dụng pha động ACN – H₂O để định lượng đồng thời paclitaxel, taxinin B, 10-deacetyltaxinin B, taxuspin D và taxuspin F, tuy nhiên, không bao gồm 10-DAB III [3].

Lê Thị Kim Phụng và cộng sự đã xác định paclitaxel và 10-DAB III trong lá và cành Thông đỏ bằng HPLC-PDA [4]; điều kiện sắc ký gồm cột Eclipse XDB-C18 (150 $\times$ 4,6 mm; 5 μ m), pha động ACN – MeOH – H₂O. Bên cạnh đó, quy trình định lượng chưa trình bày kết quả thẩm định nên chưa đủ dữ liệu để so sánh trực tiếp độ nhạy, độ đúng và độ chính xác giữa hai phương pháp. So với hệ pha động trong nghiên cứu [4], phương pháp hiện tại sử dụng ACN là dung môi hữu cơ duy nhất, kết hợp với dung dịch TFA 0,1% trong nước.

Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp có tính phù hợp hệ thống tốt, độ đặc hiệu phù hợp và mối tương quan tuyến tính chặt chẽ trong khoảng nồng độ khảo sát với $R^2 = 0,9991$. Giá trị LOD và LOQ lần lượt là 1,10 và 3,50 μ g/mL. Độ thu hồi dao động từ 98,63 – 103,86%, nằm trong giới hạn chấp nhận đã lựa chọn theo hướng dẫn AOAC [7]. RSD của độ lặp lại trong ngày và độ chính xác trung gian lần lượt là 2,09% và 1,73%; đồng thời không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa kết quả phân tích ở các ngày khác nhau ($p > 0,05$). Các kết quả này cho thấy phương pháp có độ đúng và độ chính xác phù hợp để định lượng 10-DAB III trong mẫu lá Thông đỏ.

So với các kỹ thuật LC-MS/MS có độ nhạy và khả năng định danh cao [5], HPLC-PDA có ưu điểm về tính phổ biến, quy trình phân tích đơn giản và chi phí thấp hơn, thuận lợi cho việc triển khai thường quy tại các phòng thí nghiệm và cơ sở kiểm nghiệm.

Khi áp dụng phương pháp trên hai mẫu lá Thông đỏ thu hái tại Lâm Đồng, hàm lượng 10-DAB III xác định được từ 2,58 mg/g– 2,72 mg/g. Đây là ứng dụng bước đầu của phương pháp trên mẫu thực; kết quả chỉ phản ánh hàm lượng trong hai mẫu khảo sát, chưa đủ cơ sở để suy

rộng về hàm lượng 10-DAB III của nguồn Thông đỏ tại Lâm Đồng. Các nghiên cứu trước cho thấy hàm lượng 10-DAB III trong *Taxus wallichiana* Zucc. có thể biến động theo thời điểm thu hái và nguồn nguyên liệu [2]. Do đó, phương pháp được xây dựng có thể là công cụ phù hợp để đánh giá và kiểm soát chất lượng dược liệu Thông đỏ. Tuy nhiên, số lượng mẫu khảo sát trong nghiên cứu còn hạn chế; cần mở rộng số mẫu, thời điểm và vùng thu hái để đánh giá đầy đủ hơn sự biến động hàm lượng 10-DAB III trong nguyên liệu.

5. KẾT LUẬN

Đề tài đã xây dựng được quy trình định lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ với chương trình sắc ký gồm cột Zorbax C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm), pha động gồm acetonitril-dung dịch trifluoroacetic acid 0,1% (30:70, v/v); tốc độ dòng 1,0 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 10 μL, bước sóng phát hiện 228 nm. Quy trình định lượng đã được thẩm định có độ đặc hiệu và độ chính xác cao, độ đúng từ 98,63 – 103,86%. Kết quả định lượng 10-DAB III trong các mẫu lá Thông đỏ dao động khoảng 2,58 – 2,72 mg/g. Do vậy, phương pháp có thể được sử dụng để định lượng và hỗ trợ kiểm soát hàm lượng 10-DAB III trong lá Thông đỏ.

LỜI CẢM ƠN: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Công ty TNHH Dương Gia DaLat đã cung cấp mẫu vật lá Thông đỏ để phân tích hàm lượng 10-DAB III. Nghiên cứu này không nhận tài trợ hay hỗ trợ kinh phí của bất cứ đơn vị nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Bình Dương. Nghiên cứu quy trình tạo sinh khối tế bào thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) để chiết xuất hoạt chất điều trị ung thư: Học viện Quân Y; 2012.
2. Nguyễn Hữu Toàn Phan, Nguyễn Thị Diệu Thuần, Nguyễn Công Hào, Châu Văn Minh. Sự biến động của hàm lượng 10-deacetylbaccatin III và 19-hydroxy baccatin III theo thời gian thu hái trong lá cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc. ở tỉnh Lâm Đồng. Tạp chí Sinh học. 2007;29(4):49-51.
3. Hứa Hoàng Oanh. Phân lập một số hợp chất Taxoid từ lá Thông Đỏ Lá Dài (*Taxus Wallichiana* Zucc.) trồng ở Lâm Đồng, định hướng thiết lập chất đối chiếu: Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh; 2020.
4. Le Thi Kim Phung, Vu Thi Hong Quan, Nguyen Thi Ngoc Tuyet, Tran Anh Khoa, Le Anh Kien. Microwave-assisted extraction of Taxol and 10-deacetylbaccatin III from the leaves and branches of red pine (*Taxus wallichiana* Zucc.). Science & Technology development. 2016;19(3):76-87.
5. Oguzkan SB, Karagul B, Aksoy ES, Uzun A, Can M, Yilmaz H, et al. Determination of taxanes by validated LC-MS/MS method in hazelnut collected from different regions and altitudes in Turkey. Journal of chemical Metrology. 2018;12(1):26-33.
6. Gauchan DP, Bhuju S, Lamichhane J, Shakya R, García-Gil MR, Establishment of regenerative callus, cell suspension system, and molecular characterization of *Taxus wallichiana* Zucc. for the in vitro production of Taxol. J Appl Pharm Sci. 2021;11(6):22-34.
7. AOAC International. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. In: official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. Rockville, MD: AOAC International; 2016.