

## Phân lập và xác định hàm lượng tanshinon I, cryptotanshinon, tanshinon IIA trong dược liệu cây Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* B.) bằng sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC-DAD)

Isolation and Determination of Tanshinon I, Cryptotanshinone, Tanshinone IIA in Danshen (*Salvia miltiorrhiza* B.) by Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC-DAD)

Đoàn Mạnh Dũng<sup>1\*</sup>, Đặng Thị Ngân<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Huệ<sup>2</sup>, Lê Quốc Hùng<sup>2</sup>,  
Nguyễn Hữu Tùng<sup>2</sup>, Nguyễn Đình Luyện<sup>3</sup>, Trần Đình Thắng<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

<sup>2</sup>Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>3</sup>Khoa Hóa học, Đại học Sư phạm, Đại học Huế

<sup>4</sup>Viện Công nghệ Hóa, Sinh, Môi trường, Đại học Vinh

Đến Tòa soạn: 22-12-2018; chấp nhận đăng: 27-9-2019

### Tóm tắt

Bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi phân lập được ba hợp chất tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA từ cây Đan sâm (*S. miltiorrhiza* B.). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định dựa trên cơ sở các số liệu vật lý (phổ công hưởng từ hạt nhân <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR và phổ khối lượng ESI-MS). Các hợp chất này được tinh sạch (độ tinh khiết > 99,8%) bằng hệ thống sắc ký lỏng điều chế (Agilent 218 Purification System), được sử dụng làm chất chuẩn phân tích hàm lượng tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong 6 mẫu dược liệu Đan sâm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (UPLC-DAD). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xác định hàm lượng của tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong các mẫu dược liệu thu hái ở các vùng khác nhau của Việt Nam

Từ khoá: Cryptotanshinone, *Salvia miltiorrhiza*, Tanshinone I, Tanshinone IIA, UPLC-DAD.

### Abstract

By chromatography, we isolated three principal compounds, tanshinon I, cryptotanshinone, tanshinone IIA from Danshen (*Salvia miltiorrhiza* B.). Their structures were determined on the basis of physicochemical data (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and ESI-MS mass spectra). These compounds are purified (purity > 99,8%) by Agilent 218 purification system, which were used as standards for analyzing respective tanshinon I, cryptotanshinone and tanshinone IIA in six samples by the Ultra performance liquid chromatography (UPLC-DAD). In this study, we determined the content of tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA in samples collected in different parts of Vietnam. The diterpen tanshinon compounds are the main active ingredients and are considered to be characteristic of Danshen in particular and *Salvia* species in general.

Keywords: Cryptotanshinone, *Salvia miltiorrhiza*, Tanshinone I, Tanshinone IIA, UPLC-DAD.

## 1. Mở đầu

Đan sâm (*S. miltiorrhiza* B.) thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae) là một cây thuốc quý được di thực vào Việt Nam từ Trung Quốc, hiện nay được trồng nhiều và sinh trưởng tốt ở vùng Tây Bắc [1-3]. Trong đông y, đan sâm được dùng trong các bài thuốc bổ máu và điều trị bệnh tim mạch. Gần đây tác dụng chống ung thư của đan sâm, đặc biệt là của thành phần tanshinone được phát hiện và thu hút nhiều sự quan tâm nghiên cứu trên thế giới [4-6]. Ở nước ta, nghiên cứu về đan sâm đang được quan tâm để phát triển ứng dụng loại dược liệu quý này. Thành phần tanshinon như tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA là

thành phần hoạt chất chính và được sử dụng làm chất chuẩn để đánh giá chất lượng dược liệu đan sâm [4-6]. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành phân lập tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA và phân tích định lượng của các thành phần này trong các mẫu dược liệu đan sâm thu hái ở các vùng khác nhau.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Thiết bị

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (UPLC) Agilent 1290, cột sắc ký EC-C<sub>18</sub> (100 × 2,1 mm, 2,7 μm), hệ thống sắc ký lỏng điều chế (Agilent 218 Purification System), máy đo năng suất quay cực đo Jasco DIP-360 digital polarimeter, máy đo điểm nóng chảy Stuart SMP3 (Sanyo, Nhật Bản), hệ thống máy

\* Địa chỉ liên hệ : Tel : (+84) 396904011  
Email : doanmanhdung151090@gmail.com

AGILENT 1260 Series LC-MS/MS ion Trap (Agilent Technologies, Hoa Kỳ) đo phổ khối ion hóa phun mù điện tử (ESI-MS). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một và hai chiều được đo trên máy JEOL ECX 400 (Jeol, Nhật Bản), cân phân tích OHAUS PA214 độ chính xác 0,0001g, bể siêu âm, máy ly tâm Vortex, màng lọc 13 mm, 0,22  $\mu$ m (PTFE).

## 2.2. Hóa chất

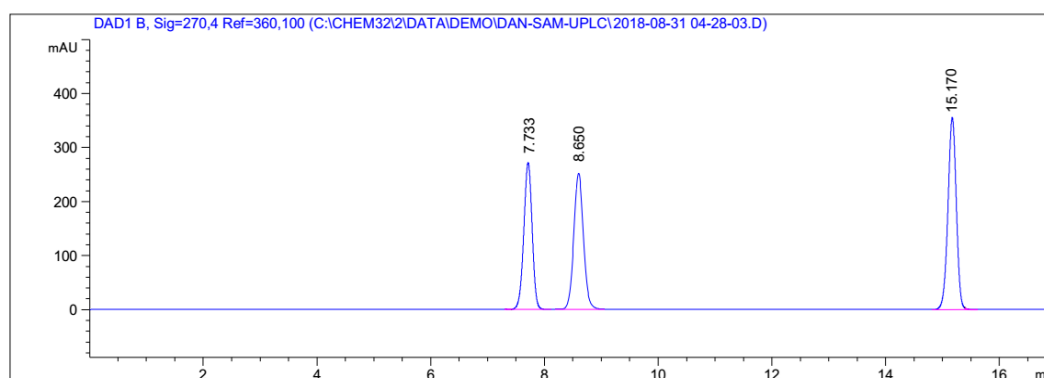
Các dung môi dùng trong chiết xuất, phân lập như methanol (MeOH), hexan, chloroform (CHCl<sub>3</sub>), ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (BuOH) đều đạt tiêu chuẩn công nghiệp và được chưng cất lại trước khi dùng. Dung môi dùng cho phân tích methanol (Merck, Đức), acetonitrile (Merck, Đức), nước cất, acid formic (Merck). Sắc ký cột (CC) sử dụng silicagel (Kieselgel 60, 70-230 mesh and 20-400 mesh, Merck). Sắc ký lớp mỏng (TLC) sử dụng bản tráng sẵn silicagel 60 F<sub>254</sub>(1.05554.0001, Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là hơi I<sub>2</sub>.

## 2.3. Nguyên liệu thực vật

Rễ Đan sâm (*S. miltiorrhiza*) sử dụng để nghiên cứu chiết tách được thu hái tại Sa Pa (Lào Cai) tháng 9/2016 và được giám định tại Khoa Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu. Tiêu bản của mẫu nghiên cứu (DS2016.01) được lưu tại Viện Dược liệu và Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Các mẫu dược liệu rễ Đan sâm trồng tại Sa Pa, Mộc Châu, Mường Lống, Hà Giang, Quảng Tây và Lâm Đồng được cung cấp bởi PGS. TS. Phương Thiện Thương, Khoa Hóa phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

## 2.4. Điều kiện, các thông số tối ưu phân tích

Trên cơ sở phân tích tài liệu tham khảo [7] và khảo sát về thành phần pha động, tỷ lệ dung môi, tốc độ dòng, chúng tôi xây dựng được chương trình sắc ký sử dụng hệ thống UPLC Agilent 1290 Infinity như sau: pha tĩnh: cột sắc ký EC-C<sub>18</sub> (100 x 2,1 mm, 2,7  $\mu$ m), pha động: MeOH (A) – nước chứa 10 nM ammonium acetate và 0,1% HCOOH (B) theo tỉ lệ 68:32 (v/v), tốc độ dòng: 0,25 ml/min; thể tích tiêm mẫu: 10  $\mu$ l; nhiệt độ buồng cột: 35°C; bước sóng phát hiện: 270 nm; thời gian phân tích 17 phút; dung môi pha mẫu: MeOH:H<sub>2</sub>O - 70:30 (v/v).



Hình 1. Sắc ký đồ của tanshinon I, cryptotanshinon và tanshinon IIA

## 2.5. Phân lập chất chuẩn

Mẫu rễ đan sâm (500 g) sau khi rửa sạch, phơi khô, thái nhỏ được ngâm chiết kỹ bằng dung môi ethanol 80% 3 lần (mỗi lần 1500 mL) sử dụng thiết bị chiết siêu âm ở 40°C trong 4 giờ. Các dịch chiết ethanol thu được được lọc qua giấy lọc, gom lại và cất loại dung môi dưới áp suất giảm cho 122 g cao chiết tổng ethanol. Lấy 100 g cao chiết hòa tan trong nước cất (500 mL) và chiết phân bố bằng Hex, EtOAc và BuOH (mỗi dung môi 3 lần, mỗi lần 500 mL). Các dịch chiết phân đoạn được cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được phân đoạn tương ứng Hex (6,1 g), EtOAc (26,4 g) và BuOH (17,2 g). Trong các phân đoạn thu được, phân đoạn Hex với tác dụng ức chế mạnh sự phát triển của tế bào ung thư máu HL-60 được tiến hành phân lập sắc ký sử dụng cột nhồi silica gel (50 mm x 300 mm) với hệ dung

môi rửa giải hexane-EtOAc (5:1, v/v, 2500 mL) thu được 7 phân đoạn ký hiệu là F<sub>1</sub>-F<sub>7</sub>.

Từ phân đoạn F<sub>2</sub> (530 mg), kết hợp chạy sắc ký cột silica gel (30 mm x 300 mm) với hệ pha động hexane-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, v/v, 1500 mL) và sắc ký cột pha đảo C<sub>18</sub> (20 mm x 400 mm) với hệ pha động MeOH-H<sub>2</sub>O (4:1, v/v, 500 mL) thu được tanshinon IIA (bột màu đỏ, 75 mg). Tương tự, hợp chất cryptotanshinon (bột màu đỏ cam, 45 mg) được phân lập từ phân đoạn F<sub>6</sub> (150 mg) bằng sắc ký cột pha đảo C<sub>18</sub> (20 mm x 400 mm) với pha động MeOH-H<sub>2</sub>O (3:1, v/v, 400 mL).

Cuối cùng, từ phân đoạn F<sub>4</sub> (275 mg) bằng sắc ký cột pha đảo C<sub>18</sub> (20 mm x 400 mm) với pha động MeOH-H<sub>2</sub>O (4:1, v/v, 450 mL) kết hợp tinh chế bằng kết tinh lại trong methanol thu được tanshinon I (bột màu nâu đỏ, 31 mg).

Các hợp chất này được tinh sạch (độ tinh khiết > 99,8%) bằng hệ thống sắc ký lỏng điều chế (Agilent 218 Purification System).

### 2.6. Chuẩn bị mẫu phân tích

Cân chính xác một lượng bột chế phẩm sau khi đã được nghiền nhỏ (từ 2,5-3,5 g), thêm 50 ml dung dịch MeOH rồi tiến hành chiết siêu âm ở 40°C trong 2 giờ, thu được dịch chiết (lặp lại 3 lần). Cô quay thu hồi dung môi dưới áp suất thấp dịch chiết thu được rồi định mức bằng dung môi MeOH:H<sub>2</sub>O - 70:30 (v/v) trong bình định mức 100 ml. Sau đó, lọc qua màng 0,22 µm, cuối cùng bơm vào hệ thống UPLC [8].

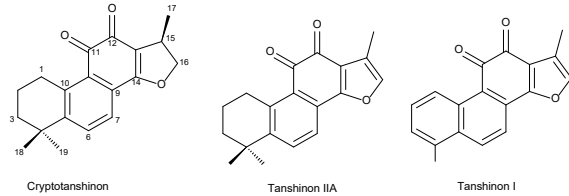
## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất

Hợp chất **1** được phân lập dưới dạng bột màu cam đỏ. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của **1** có dạng đặc trưng của một hợp chất diterpene khung abietan tanshinone. Trong đó, 02 tín hiệu proton olefin và 02 proton của nhóm oxymethylene (-CH<sub>2</sub>O- được xác định lần lượt bởi các tín hiệu cộng hưởng tại δ 7,75 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-6), 7,46 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-7), 4,89 (1H, J = 9,6 Hz, H-16a) và 4,35 (1H, dd, J = 9,2, 6,4 Hz, H-16b). Các tín hiệu cộng hưởng tại δ 1,30 (3H, s, H-18), 1,32 (3H, s, H-19), 1,24 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-17) khẳng định sự tồn tại của 2 nhóm geminal methyl bậc 4 và 1 nhóm methyl bậc 3. Phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT của **1** xuất hiện các tín hiệu của 19 cacbon. Trong đó, một nhóm oxymethylene và 2 nhóm oxo (>C=O) được khẳng định bởi các tín hiệu cộng hưởng tại δ 81,5 (C-16), 184,3 (C-11) và 175,7 (C-12). Bên cạnh đó, trên phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT chỉ ra 8 tín hiệu cộng hưởng của các olefin cacbon và đặc biệt 3 nhóm methyl được đặc trưng bởi tín hiệu cộng hưởng tại δ 18,9 (C-17), 31,9 (C-18) và 32,0 (C-19). Phổ khối lượng ESI-MS của **1** xuất hiện tín hiệu tại m/z 297 phù hợp với ion phân tử [M+H]<sup>+</sup> của C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub> (M = 296). Từ tất cả các phân tích nêu trên, cùng với sự phù hợp hoàn toàn về số liệu phổ NMR của **1** so với các số liệu tương ứng đã được công bố [9] cho phép xác định cấu trúc hóa học của **1** là **cryptotanshinone**.

Hợp chất **2** thu được dưới dạng bột màu đỏ và là chất chính của mẫu đan sâm qua phân tích TLC. Dữ liệu phổ NMR của **2** giống với chất **1** (cryptotanshinon) trừ các tín hiệu vòng furan (vòng D) với sự xuất hiện tín hiệu ở trường thấp gợi ý dẫn xuất dehydro hóa với nối đôi ở C-15/C-16. Điều này được minh chứng thêm bằng phổ khối ESI-MS với sự xuất hiện peak ion phân tử tại m/z 295 [M+H]<sup>+</sup> phù hợp với sự công thức phân tử C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> (M = 294). Căn cứ vào các phân tích nêu trên cùng với sự phù hợp phổ NMR của tanshinon IIA trong tài liệu tham khảo [9], [10] giúp khẳng định chính xác chất **2** là **tanshinon IIA**.

Hợp chất **3** phân lập dưới dạng chất bột màu đỏ. Phân tích phổ <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR của **3** thấy rằng đây cũng là một diterpene tanshinone đặc trưng của đan sâm. Phổ khối ESI-MS thể hiện tín hiệu ion tại m/z 279 [M+H]<sup>+</sup> phù hợp với ion phân tử của tanshinon I là C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> (M = 278). Theo phân tích nêu trên cùng với sự phù hợp phổ <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR với các số liệu công bố [9], [10] giúp khẳng định chính xác chất **3** là **tanshinon I**.



Hình 2. Công thức hóa học các hợp chất

### 3.2. Kiểm tra độ tinh khiết

Sử dụng phương pháp tổng diện tích peak tính toán độ tinh khiết của mẫu phân tích [11], [12]. Tiến hành sắc ký theo chương trình trên, phân tích các peak phụ (tạp chất) trên sắc ký đồ và tính độ tinh khiết. Kết quả cho thấy tanshinon I, cryptotanshinone, tanshinone IIA tinh chế được có độ tinh khiết cao (>99,8%) phù hợp làm chất chuẩn phân tích, chất chuẩn đối chiếu. Các peak phụ (tạp chất) đều tách rõ ràng khỏi peak chất phân tích.

### 3.3. Đánh giá phương pháp phân tích

#### 3.3.1. Tính đặc hiệu

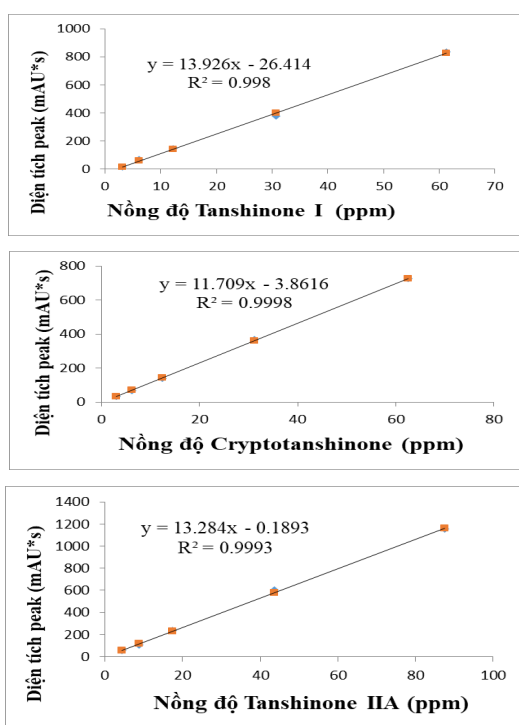
Tiến hành sắc ký các loại mẫu trắng và mẫu phân tích tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA theo chương trình khảo sát trên, ghi lại sắc ký đồ, xác định thời gian lưu và phổ UV của các chất đó trong sắc ký đồ. Kết quả cho thấy trên sắc ký đồ của dung môi pha mẫu không xuất hiện peak ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của tanshinone I (t<sub>R</sub> = 7,78 min), cryptotanshinone (t<sub>R</sub> = 8,65 min) và tanshinone IIA (t<sub>R</sub> = 15,17 min) (Hình 1). Vậy phương pháp phân tích tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA xây dựng được có độ đặc hiệu cao.

#### 3.3.2. Tính thích hợp của hệ thống

Tiến hành phân tích lần lượt 01 dung dịch chuẩn của tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA lặp lại 06 lần, ghi lại các sắc ký đồ và xác định giá trị thời gian lưu, diện tích peak, hệ số đối xứng và số đĩa lý thuyết. Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của các thông số đều thấp hơn 2% (Bảng 1). Điều đó cho thấy các điều kiện sắc ký đã lựa chọn và hệ thống sắc ký UPLC sử dụng là ổn định, phù hợp cho phép phân tích định tính, định lượng tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong các mẫu dược liệu Đan sâm.

3.3.3. Độ tuyến tính

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn có nồng độ 1-130 µg/ml (ppm) bằng cách pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc ban đầu với các hệ số pha loãng khác nhau. Tiến hành sắc ký các dung dịch chuẩn (mỗi dung dịch tiêm 3 lần), ghi lại sắc ký đồ và xác định diện tích peak tương ứng. Xác định phương trình hồi quy tuyến tính, hệ số tương quan tuyến tính giữa nồng độ chất phân tích và diện tích peak tương ứng trên sắc ký đồ bằng phương pháp bình phương tối thiểu.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn đường chuẩn của tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA

Kết quả phương trình hồi quy tuyến tính thu được với tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA có hệ số xác định và hệ số tương quan rất cao, độ tuyến tính chặt, khoảng tuyến tính rộng.

3.3.4. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Giới hạn phát hiện: tiến hành pha loãng mẫu phân tích tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA đến khi tín hiệu của chất phân tích trên sắc ký đồ thu được có tỷ lệ S/N (chiều cao tín hiệu/nhiều) đạt khoảng 2-3. Nồng độ xác định được là giới hạn phát hiện (LOD) của phương pháp ứng với từng chất. Giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp được xác định dựa trên giới hạn phát hiện:  $LOQ = 3,3 \times LOD$ . Kết quả phân tích cho thấy phương pháp có giới hạn phát hiện với tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA lần lượt là 0,5 ppm, 0,4 ppm và 0,6 ppm, tương ứng có giới hạn định lượng lần lượt là 1,6 ppm, 1,4 ppm và 1,9 ppm.

3.3.5. Độ đúng

Thêm chính xác một lượng mẫu chuẩn nồng độ xác định vào một thể tích 6 mẫu giống nhau rồi tiến hành sắc ký theo phương pháp đã xác định để xác định lượng chất thu hồi. Kết quả cho thấy phương pháp có độ đúng đáp ứng yêu cầu của phương pháp phân tích UPLC với tỷ lệ thu hồi từ 97,0 đến 104,0% phù hợp yêu cầu của AOAC.

3.4. Phân tích Tanshinone I, Cryptotanshinone, Tanshinone IIA trong mẫu dược liệu Đan sâm

Hàm lượng tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong các mẫu dược liệu Đan sâm được xác định với các điều kiện tối ưu và theo phương pháp đường chuẩn đã xây dựng ở mục 2.4 và 2.6. Các kết quả thu được được trình bày ở bảng 2 và 3. Áp dụng đường chuẩn hồi quy tuyến tính thu được và phương pháp nội suy để phân tích hàm lượng tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong các mẫu dược liệu sử dụng trong nghiên cứu đề tài cho kết quả ở bảng 1, 2, 3.

Từ các kết quả ở bảng 1, 2, 3 cho thấy, phương pháp UPLC-DAD khi phân tích các mẫu chế phẩm thuốc đạt độ lặp lại tương đối tốt  $RSD < 2\%$ . Như vậy, phương pháp phân tích có độ lặp lại cao, phù hợp để xác định tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong các mẫu dược liệu Đan sâm.

Bảng 1. Kết quả phân tích hàm lượng tanshinone I

Ký hiệu mẫu	Hàm lượng tanshinone I đo được (mg/g)					1/2.RSD <sub>H</sub> (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình ± SD	RSD (%)	
Sa Pa	2.44	2,46	2,46	2,45±0,01	0,5	2,5
Lâm Đồng	4.43	4,42	4,44	4,43±0,01	0,2	2,3
Hà Giang	3.51	3,54	3,53	3,53±0,02	0,4	2,3
Mộc Châu	2.85	2,91	2,87	2,88±0,03	1,1	2,4
Quảng Tây	1.56	1,54	1,58	1,56±0,02	1,3	2,6
Mường Lông	1.28	1,26	1,25	1,26±0,02	1,2	2,7

**Bảng 2.** Kết quả phân tích hàm lượng cryptotanshinone

Ký hiệu mẫu	Hàm lượng cryptotanshinone đo được (mg/g)					1/2.RSD <sub>H</sub> (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình ± SD	RSD (%)	
Sa Pa	4,63	4,66	4,67	4,65±0,02	0,4	2,2
Lâm Đồng	8,13	8,16	8,14	7,21±0,02	0,2	2,1
Hà Giang	5,14	5,19	5,21	5,19±0,03	0,5	2,2
Mộc Châu	4,18	4,14	4,16	4,16±0,02	0,5	2,3
Quảng Tây	2,86	2,84	2,86	2,85±0,01	0,4	2,4
Mường Lông	3,85	3,91	3,89	3,88±0,03	0,8	2,3

**Bảng 3.** Kết quả phân tích hàm lượng tanshinone IIA

Ký hiệu mẫu	Hàm lượng tanshinone IIA đo được (mg/g)					1/2.RSD <sub>H</sub> (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình ± SD	RSD (%)	
Sa Pa	9,21	9,15	9,18	9,18±0,03	0,3	2,0
Lâm Đồng	9,88	9,86	9,91	9,88±0,03	0,3	2,0
Hà Giang	12,97	12,95	13,06	12,99±0,06	0,5	1,9
Mộc Châu	8,35	8,45	8,38	8,39±0,05	0,6	2,1
Quảng Tây	4,75	4,79	4,81	4,78±0,03	0,6	2,2
Mường Lông	3,84	3,78	3,81	3,81±0,03	0,8	2,3

#### 4. Kết luận

Bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi phân lập được ba hợp chất tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA từ cây Đan sâm (*S. miltiorrhiza* B.). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định dựa trên cơ sở các số liệu vật lý (phổ công hưởng từ hạt nhân <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR và phổ khối lượng ESI-MS). Các hợp chất này được tinh sạch (độ tinh khiết > 99,8%) bằng hệ thống sắc ký lỏng điều chế (Agilent 218 Purification System), được sử dụng làm chất chuẩn phân tích hàm lượng tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone IIA trong các mẫu dược liệu Đan sâm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (UPLC-DAD). Kết quả cho ta thấy hàm lượng tanshinone I cao nhất khi thu hái ở Lâm Đồng (4,43±0,01 mg/g), thấp nhất là mẫu Đan sâm ở Mường Lông (1,26±0,02 mg/g). Hàm lượng cryptotanshinone cao nhất khi thu hái ở Lâm Đồng (7,21±0,02 mg/g), thấp nhất là mẫu Đan sâm ở Quảng Tây – Trung Quốc (2,85±0,01 mg/g). Đối với tanshinone IIA hàm lượng cao nhất ở Hà Giang (12,99±0,06 mg/g), thấp nhất là mẫu Đan sâm ở Mường Lông (3,81±0,03 mg/g). Các hợp chất diterpen tanshinon là thành phần hoạt chất chính và được coi là chất đặc trưng của Đan sâm nói riêng và các loài *Salvia* nói chung.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106-YS.05-2015.05.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Đỗ Huy Bích, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội (2004).
- [2] Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam (Bộ mới), Nhà xuất bản Y học, Hà Nội (2012).
- [3] Phạm Hoàng Hộ, Cây cỏ Việt Nam, Nhà xuất bản Trẻ, Hà Nội (1992).
- [4] Y.Y. Xu, Recent advance on research and application of *Salvia miltiorrhiza*, *Asian Journal of Pharmacodynamics and Pharmacokinetics*, (2007), 7(2), 99-130.
- [5] B.Q. Wang, *Salvia miltiorrhiza*: Chemical and pharmacological review of a medicinal plant, *Journal of Medicinal Plants Research*, (2010), 4(25), 2813-2820.
- [6] L. Zhou, Z. Zuo, M.S. Chow, Danshen: An overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use, *The Journal of Clinical Pharmacology*, (2005), 45 (12), 1345-1359.
- [7] E.J. Park, H.Y. Ji, N.J. Kim, W.Y. Song, Y.H. Kim, Y.C. Kim, D.H. Sohn, H.S. Lee, Simultaneous determination of tanshinone I, dihydrotanshinone I, tanshinone IIA and cryptotanshinone in rat plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study of a standardized fraction of *Salvia miltiorrhiza*, *PF2401-SF*, *Biomed. Chromatogr.* (2008), 22: 548–555.
- [8] A. Zeng, D. Wang, N. Wu, R. Yang, G. Nan, X. Bian, G. Yang, Extraction of Tanshinone IIA and

- Cryptotanshinone from the Rhizome of *Salvia miltiorrhiza* B.: Kinetics and Modeling, *Separation Science and Technology*, (2014), 49: 2330–2337.
- [9] Phương Thiện Thương, Nguyễn Thị Kim An, Nguyễn Minh Khởi, Fumiaki Ito, Các tanshinon phân lập từ rễ cây đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* B.) di thực và trồng ở Việt Nam, *Tạp chí Dược học*, (2013), 53(1), 44-47.
- [10] Nguyễn Hữu Tùng, Nguyễn Thanh Hải, Vũ Đức Lợi, Bùi Thanh Tùng, Nguyễn Tiến Vững, Bùi Hồng Cường, Một số hợp chất phân lập từ rễ cây đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* B.) trồng ở huyện Bắc Hà, tỉnh Lào Cai, *Tạp chí Dược học*, (2016), 56(4), 43-47.
- [11] Phạm Luận, Phương pháp phân tích sắc ký và chiết tách, Nhà xuất bản Bách khoa Hà Nội, Hà Nội, 2014.
- [12] Trần Cao Sơn (2010), Thẩm định phương pháp phân tích hóa học. In: Thẩm định phương pháp trong phân tích Hóa học và Vi sinh vật, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật – Hà Nội