



Review Article

## Herbal Extracts: Importance, Classification, Quality Characteristics, and Control

Tran Trong Bien<sup>1,\*</sup>, Tran Thi Tuyet<sup>2</sup>, Bui Thi Lan Phuong<sup>1,3</sup>, Pham Thai Ha Van<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Dai Nam University, 1 Xom, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>National Institute of Pharmaceutical Technology, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 05 October 2021

Revised 19 October 2021; Accepted 01 December 2021

**Abstract:** Herbal extracts are one of the herbal preparations obtained by the extraction method. There has been an increasing trend of application of herbal extracts to replace traditional medicinal herbs in using and manufacturing of drug dosage forms. The quality characteristics of herbal extracts roots from their multi-components nature, leading to multiple targets and mechanisms of action. Thus hindering the development of quality assessment systems and also the application of pharmaceutical technologies in the development of modern dosage forms, leading to a decrease in therapeutic efficacy in clinical practice. This review systematizes some information related to herbal extracts: the position and importance of herbal extracts in drug research and development, classification, characteristics, and quality control strategies. The purpose of this review is to consolidate and expand the general understanding of the “pharmaceutical nature” of herbal extracts and to provide some quality control strategies using markers and reference materials.

**Keywords:** Herbal extracts, quality characteristics, classification, quality control, pharmaceutical nature.

\* Corresponding author.

*E-mail address:* [trantrongbien@gmail.com](mailto:trantrongbien@gmail.com)

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4374>

# Cao dược liệu: tầm quan trọng, phân loại, đặc trưng và kiểm soát chất lượng

Trần Trọng Biên<sup>1,\*</sup>, Trần Thị Tuyết<sup>2</sup>, Bùi Thị Lan Phương<sup>1,3</sup>, Phạm Thái Hà Văn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Đại Nam, 1 Xóm, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Viện Công nghệ Dược phẩm Quốc gia, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 05 tháng 10 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 19 tháng 10 năm 2021; Chấp nhận đăng ngày 01 tháng 12 năm 2021

**Tóm tắt:** Cao dược liệu là một trong những chế phẩm từ dược liệu thu được bằng phương pháp chiết xuất. Xu hướng ứng dụng cao dược liệu thay thế dược liệu truyền thống trong sử dụng và bào chế các dạng thuốc ngày càng tăng. Các đặc trưng chất lượng của cao dược liệu xuất phát từ bản chất nhiều thành phần của nó, dẫn tới tác dụng đa đích, đa cơ chế. Điều này cản trở việc xây dựng các hệ thống đánh giá chất lượng và cả việc áp dụng các công nghệ dược phẩm trong phát triển các dạng bào chế hiện đại, dẫn tới giảm hiệu lực điều trị trên thực hành lâm sàng. Bài tổng quan này hệ thống một số thông tin liên quan đến cao dược liệu: vị trí và vai trò của cao dược liệu trong nghiên cứu phát triển thuốc, phân loại, các đặc trưng và chiến lược kiểm soát chất lượng. Mục đích của bài tổng quan là củng cố và mở rộng các hiểu biết chung về “bản chất dược” của cao dược liệu và cung cấp một số chiến lược kiểm soát chất lượng sử dụng chất đánh dấu và nguyên liệu đối chiếu.

**Từ khóa:** Cao dược liệu, đặc trưng chất lượng, phân loại, kiểm soát chất lượng, bản chất dược.

## 1. Mở đầu

Theo Dược điển Việt Nam 5 (ĐĐVN 5), cao dược liệu (cao thuốc) là chế phẩm được chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với dung môi thích hợp [1]. Trong đó, cao dược liệu có nguồn gốc thực vật phổ biến hơn cả. Một quy trình sản xuất cao dược liệu thường gồm các bước: xử lý dược liệu (làm khô, xay nghiền, diệt enzyme, loại tạp, làm trương nở), chiết xuất, tinh chế loại tạp chất, cô đặc, làm khô, điều chỉnh hàm lượng hoạt chất và/hoặc chất đánh dấu (marker) và hoàn chỉnh chế phẩm [2, 3]. Các dung môi hay sử dụng để điều chế cao dược liệu là nước và hỗn hợp cồn-nước do tính sẵn có và

an toàn, mặc dù các dung môi khác như aceton, ethyl acetat, ether,... cũng có thể được cân nhắc trong trường hợp nhất định [2-5]. Trong nghiên cứu phát triển thuốc từ dược liệu, cao dược liệu chiếm một vị trí quan trọng, nó là sản phẩm trung gian trong quy trình chiết xuất và bào chế các dạng thuốc. Khác với các sản phẩm khác chiết xuất từ dược liệu như đơn chất, nhóm hoạt chất, phân nhóm hoạt chất, cao dược liệu có thành phần đa dạng và phức tạp, dẫn tới tác dụng đa đích, đa cơ chế. Chính điều này gây ra nhiều khó khăn trong nghiên cứu và kiểm soát chất lượng cao dược liệu. Nhiều câu hỏi được đặt ra về vai trò của các thành phần trong cao (ví dụ: hoạt chất, chất hiệp đồng, chất đối kháng, chất đặc trưng)? Hệ thống phân loại cao dược liệu trong

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: trantrongbien@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4374>

các Dược điển như thế nào? Làm sao để kiểm soát và nâng cao chất lượng cao dược liệu? Bài tổng quan này hệ thống một số thông tin liên quan đến cao dược liệu có nguồn gốc thực vật: vị trí và vai trò của cao dược liệu trong nghiên cứu phát triển thuốc, phân loại, các đặc trưng và chiến lược kiểm soát chất lượng. Mục đích của bài tổng quan là củng cố và mở rộng các hiểu biết chung về “bản chất dược” của cao dược liệu và cung cấp một số chiến lược kiểm soát chất lượng sử dụng chất đánh dấu và nguyên liệu đối chiếu.

## 2. Tầm quan trọng của cao dược liệu

Trước hết, cần hiểu một số thuật ngữ liên quan đến thuốc dược liệu, các thành phần trong thuốc dược liệu và kiểm soát chất lượng thuốc dược liệu theo Tổ chức y tế thế giới (World Health Organization, WHO) như sau [6].

+ *Thuốc dược liệu* (herbal medicines): là thuốc được sản xuất từ nguyên liệu có nguồn gốc tự nhiên từ động vật, thực vật hoặc khoáng chất. Bao gồm dược liệu (herbs), nguyên liệu từ dược liệu (herbal materials), chế phẩm từ dược liệu (herbal preparations) và thành phẩm từ dược liệu (finished herbal products). Thuốc có hoạt chất tinh khiết được chiết xuất từ dược liệu, thuốc có sự kết hợp dược liệu với các hoạt chất hóa học tổng hợp không gọi là thuốc từ dược liệu.

+ *Dược liệu* (herbs): bao gồm các nguyên liệu thô có nguồn gốc từ rêu, tảo, nấm, hoặc thực vật bậc cao như lá, hoa, quả, quả thê, hạt, thân, gỗ, rễ hoặc các bộ phận khác. Chúng có thể để nguyên, phân chia thành lát hoặc nghiền thành bột.

+ *Nguyên liệu từ dược liệu* (herbal substance, herbal material): bao gồm dược liệu, dịch ép, gôm, dầu, tinh dầu, nhựa, bột khô dược liệu.

+ *Chế phẩm từ dược liệu* (herbal preparation): là các chế phẩm đồng nhất thu được bằng cách xử lý dược liệu bằng nhiều biện pháp như chiết xuất, cất, ép, phân đoạn, tinh chế, cô đặc hoặc lên men. Bao gồm: cao chiết, tinh dầu, nước ép và các nguyên liệu từ dược liệu được xay nghiền cho các mục đích khác nhau (nguyên liệu từ dược liệu cắt để làm trà hoặc nghiền mịn để đóng nang). Như vậy, cao dược

liệu là một loại *Chế phẩm từ dược liệu* thu được bằng phương pháp chiết xuất.

+ *Thành phẩm từ dược liệu* (finished herbal products): bao gồm các chế phẩm từ dược liệu làm từ một hoặc nhiều dược liệu, ngoài ra có thể chứa các tá dược khác ngoài hoạt chất.

+ *Tác dụng điều trị* (therapeutic activity): là khả năng ngăn ngừa, chẩn đoán hoặc chữa trị các bệnh lý về thể chất và tinh thần. Trong đó, chữa trị bao gồm thay đổi hoặc điều hòa các tình trạng thể chất và tinh thần của cơ thể và tạo cảm giác hạnh phúc cũng như cải thiện các triệu chứng bệnh.

+ *Hoạt chất* (active ingredients): là những thành phần có tác dụng điều trị đã biết khi chúng được nhận diện. Khi không thể nhận diện được hoạt chất thì cả cao dược liệu có thể xem là một hoạt chất.

+ *Thành phần có tác dụng điều trị đã biết* (constituents with known therapeutic activities): chất hoặc nhóm chất được xác định về hóa học và được chấp nhận là có đóng góp đáng kể vào tác dụng điều trị cao dược liệu.

+ *Thành phần có tác dụng dược lý (sinh học) đã được ghi nhận* (constituents with recognized pharmacological (biological) activities): những thành phần đặc trưng (chất hoặc nhóm chất) được xác định về hóa học, ở đó, sự liên quan giữa tác dụng dược lý (sinh học) của chúng tới hiệu quả điều trị hoặc độc tính của cao dược liệu chưa được thiết lập đầy đủ.

+ *Thành phần đặc trưng* (characteristic constituents): những chất hoặc nhóm chất xác định về hóa học và đặc hiệu cho một dược liệu nào đó hoặc một loài, chi, họ thực vật. Thành phần đặc trưng dùng làm tiêu chuẩn để xác định đảm bảo chất lượng cho thuốc từ dược liệu và không nhất thiết phải là chất có tác dụng sinh học hay tác dụng điều trị.

+ *Chất đối chiếu* (reference substance): những chất xác định về hóa học (thích hợp với mục đích sử dụng để chuẩn hóa hoặc kiểm soát chất lượng cao dược liệu).

+ *Chất đánh dấu* (marker substances): những chất đối chiếu xác định về hóa học của cao dược liệu. Chúng có thể có hoặc không đóng góp vào tác dụng điều trị. Thậm chí, ngay cả khi chúng

đóng góp vào tác dụng điều trị, có thể không có các bằng chứng về việc chúng là những thành phần duy nhất chịu trách nhiệm về hiệu quả lâm sàng.

Dựa trên các tài liệu của Cơ quan Dược phẩm châu Âu (European Medicine Agency, EMA) và một số Dược điển (Việt Nam, Mỹ, Anh, Châu Âu, Trung Quốc), các sản phẩm chiết xuất từ dược liệu có thể gồm các nhóm sau khi xét về thành phần và mức độ tinh chế [1, 4, 5, 7-9]:

+ *Cao dược liệu (bao gồm cả cao thô và cao tinh chế)*: sản phẩm được chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu với dung môi thích hợp.

+ *Nhóm hoạt chất* (ví dụ: saponin toàn phần, alkaloid toàn phần): sản phẩm có sự dao động tự nhiên về tỷ lệ các thành phần vẫn được duy trì và có thể định tính được các thành phần chính.

+ *Đơn chất thô*: các chất được xác định về hóa học chiết xuất từ dược liệu và được tinh chế một phần (ví dụ: hàm lượng đạt 85%) nhưng phần còn lại là các chất cùng chiết được từ dược liệu.

+ *Phân nhóm hoạt chất*: hỗn hợp các chất được xác định về hóa học, có sự liên quan về cấu trúc và khó phân tách (ví dụ: hỗn hợp saponin chỉ chứa các saponin monodesmosides, hỗn hợp alkaloid không chứa N-oxid hoặc alkaloid bậc 4). Các chất cùng chiết được từ dược liệu đã được loại bỏ hoặc còn lại ở mức độ không đáng kể.

+ *Hỗn hợp các chất tinh khiết*: sản phẩm thu được bằng các phương pháp xử lý cụ thể (ví dụ: kết tủa các sennoside trong lá Phan tã điệp (*Cassia angustifolia* Vahl) dưới dạng muối calci). Các chất cùng chiết được từ dược liệu đã được loại bỏ hoặc còn lại ở mức độ không đáng kể.

+ *Đơn chất tinh khiết* (ví dụ: andrographolid, artemisinin): với các sản phẩm này, các thông tin tạp chất đặc trưng có thể được thiết lập và độ tinh khiết của sản phẩm phải được chứng minh đạt trong khoảng cho phép theo quy định của các hoạt chất hóa học.

Ví dụ, từ dược liệu thân rễ Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) có thể chiết xuất các sản phẩm: **(1)** Cao thô thân rễ Nghệ vàng (Dược điển Mỹ (United State Pharmacopoeia, USP) quy

định hàm lượng curcuminoids  $\geq 20\%$ ), **(2)** Cao tinh chế thân rễ Nghệ vàng, **(3)** Nhóm hoạt chất curcuminoids (gồm 3 hoạt chất chính với tỷ lệ theo quy định của USP là curcumin (70-80%), desmethoxylcurcumin (15-25%) và bisdesmethoxylcurcumin (2,5-6,5%), tổng hàm lượng curcuminoids  $\geq 95\%$ ) và **(4)** Đơn chất curcumin [10]. Tuy nhiên, một sản phẩm chiết có thể thuộc hơn một trong các nhóm phân loại trên.

Hiện nay, cao dược liệu ngày càng được ứng dụng thay thế bột dược liệu trong sử dụng và sản xuất các dạng thuốc do các ưu điểm: dễ sử dụng, giảm liều, thuận lợi khi bào chế, cải thiện sinh khả dụng, tăng độ ổn định, tăng tính đồng nhất và đặc biệt dễ tiêu chuẩn hóa chất lượng [11]. Cao dược liệu có thể là dạng bào chế hoàn chỉnh (ví dụ: cao lỏng, cao đặc) hoặc là sản phẩm trung gian trong sản xuất các dạng thuốc. Trong đó, vai trò làm nguyên liệu trong sản xuất thuốc thành phẩm chiếm một tỷ lệ lớn trong các ứng dụng của nó hiện nay. Trong các xu hướng hiện đại hóa y học cổ truyền, việc phát triển các dạng bào chế, dạng dùng mới của dược liệu đòi hỏi phải có nguyên liệu đáp ứng các yêu cầu chất lượng cao. Theo cổ truyền, dược liệu thường được sử dụng dưới dạng bột, hạt hoặc thái lát (thuốc phiến), dùng đơn dược liệu hoặc phối hợp thành bài thuốc. Dược liệu được chiết bằng các phương pháp thích hợp (như hầm, hãm, sắc) bởi bệnh nhân hoặc thầy thuốc, sau đó sử dụng theo đường uống là chủ yếu. Với sự phát triển của công nghệ dược phẩm nói chung và thuốc từ dược liệu nói riêng, việc thay đổi dạng dùng của dược liệu là rất cần thiết. Do đó, cao dược liệu cần được sản xuất, kiểm soát chất lượng một cách chặt chẽ. Ngoài ra, việc không ngừng nâng cao chất lượng cao dược liệu là một trong những vấn đề được quan tâm nghiên cứu.

Trong nghiên cứu và phát triển thuốc mới từ dược liệu, các đơn chất tinh khiết có phần được ưa chuộng hơn so với cao dược liệu do dễ kiểm soát và tiêu chuẩn hóa chất lượng hơn. Tuy nhiên, quy trình sản xuất các đơn chất tinh khiết phức tạp và tốn kém hơn nhiều so với sản xuất cao dược liệu. Các phương pháp phân lập hóa thực vật trực tiếp và phân đoạn theo hoạt tính

sinh học (bioactivity-guided fractionation) cao dược liệu được nghiên cứu cứu rộng rãi để nhận diện và làm giàu các hoạt chất. Tuy nhiên, sau khi phân tách và tinh chế từ cao dược liệu, tác dụng dược lý của nhiều hoạt chất giảm hoặc thậm chí mất hoạt tính. Ví dụ, mặc dù artemisinin có hiệu quả lâm sàng tốt trong điều trị nhiễm ký sinh trùng trên người, cao chiết từ cây Thanh cao hoa vàng (*Artemisia annua* L.) tỏ ra hiệu quả hơn artemisinin trong việc làm chậm sự tiến triển của hiện tượng kháng thuốc bởi ký sinh trùng sốt rét và kháng kháng thuốc tốt [12]. Việc giảm hiệu quả điều trị liên quan mật thiết đến việc mất tác dụng hiệp đồng giữa các thành

phần trong cao dược liệu sau khi cao được tinh chế thành đơn chất tinh khiết [13-18]. Vấn đề này sẽ được phân tích và bàn luận kỹ ở phần sau của nghiên cứu. Do đó, cao dược liệu vẫn có vai trò rất quan trọng trong nghiên cứu và phát triển sản phẩm từ dược liệu [19]. Theo đó, ở châu Âu và Mỹ, cao dược liệu là loại chế phẩm chính, chiếm khoảng 95% trong số các sản phẩm ứng dụng của dược liệu [20].

Trong ĐĐVN 5, có 7 chuyên luận cao dược liệu (từ đơn dược liệu) được ghi nhận. Một số thông tin đặc trưng về các cao dược liệu này, bao gồm các chất đánh dấu (marker), được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Các chuyên luận cao dược liệu trong ĐĐVN 5

Tên dược liệu (tiếng Việt)	Tên dược liệu (tiếng Latinh)	Phân loại	Chất đánh dấu	Hàm lượng (%)	Định lượng	Định tính
Actiso	<i>Cynara scolymus</i>	Cao đặc	Cynarin	≥ 2,5 %	Đo quang	Hóa học, TLC
Diệp hạ châu đắng	<i>Phyllanthus amarus</i>	Cao đặc	Phyllanthin	≥ 0,5 %	HPLC	Hóa học, TLC
Đình lăng	<i>Polyscias fruticosa</i>	Cao đặc	Acid oleanolic	≥ 0,04 %	HPLC	Hóa học, TLC
Ích mẫu	<i>Leonurus japonicus</i>	Cao đặc	Stachydrin hydroclorid	≥ 1,2 %	HPLC	Hóa học, TLC
Chè dây	<i>Ampelopsis cantoniensis</i>	Cao khô	Dihydromyricetin và myricetin	≥ 30,0%	HPLC	Hóa học, TLC
Huyết giác	<i>Dracaena cambodiana</i> hoặc <i>Dracaena cochinchinensis</i>	Cao khô	Loureirin B	≥ 0,45 %	HPLC	Hóa học, TLC
Bạch quả	<i>Ginkgo biloba</i>	Cao khô	Flavonoid Terpen lacton Acid ginkgolic	≥ 24,0 % ≥ 6,0% ≤ 10 ppm	HPLC	Hóa học, TLC

### 3. Phân loại

#### 3.1. Phân loại theo thể chất

Có nhiều cách phân loại cao dược liệu, trong đó hầu hết các Dược điển đều phân loại theo thể chất, gồm: cao lỏng, cao đặc (cao mềm) và cao khô [1, 4, 5, 8].

- *Cao lỏng*: Là chất lỏng hơi sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu sử dụng, còn và nước đóng vai trò dung môi chính (hay chất bảo quản hay cả hai). Nếu không có chỉ dẫn khác, quy ước

1 ml cao lỏng tương ứng với 1 g dược liệu khô dùng để điều chế cao thuốc. Ngoại lệ, Dược điển Anh (BP) và Dược điển châu Âu (EP) quy định cao lỏng chuẩn hóa (*standardised liquid extract*) chỉ được xác định bằng hàm lượng các thành phần có tác dụng điều trị đã biết. Cao lỏng thường được dùng để sản xuất các dạng thuốc lỏng (dung dịch), bán rắn (gel, kem) hoặc dùng trực tiếp.

Cao lỏng được điều chế bằng cách chiết xuất từ dược liệu hoặc hòa tan cao đặc, cao khô vào dung môi. Trong trường hợp điều chế cao lỏng

bằng phương pháp hòa tan, yêu cầu cao đặc và cao khô được chiết xuất bằng chính dung môi dùng để điều chế cao lỏng bằng cách chiết xuất trực tiếp từ dược liệu. BP và EP còn quy định: Trừ cao lỏng chuẩn hóa (*standardised liquid extract*), cao lỏng dược liệu điều chế từ cao đặc, cao khô thì cao đặc, cao khô không được chứa các thành phần khác ngoài những thành phần được chiết xuất từ dược liệu, ngoại trừ một số trường hợp như cao đặc chứa các tá dược chống oxy hóa, chất ổn định hoặc chất bảo quản kháng vi sinh vật.

Cồn thuốc (tincture) cũng là một loại chế phẩm lỏng từ dược liệu có nhiều đặc điểm tương tự cao lỏng. Theo ĐĐVN 5, cồn thuốc là những chế phẩm lỏng, được điều chế bằng cách chiết dược liệu thực vật, động vật (bằng phương pháp ngâm, ngâm kiệt) hoặc hòa tan cao thuốc, dược chất theo tỷ lệ quy định với ethanol ở các nồng độ khác nhau [1]. Cũng giống như cao lỏng, trong trường hợp điều chế cồn thuốc bằng phương pháp hòa tan, yêu cầu cao đặc và cao khô được chiết xuất bằng chính dung môi dùng để điều chế cồn thuốc bằng cách chiết xuất trực tiếp từ dược liệu. BP và EP còn quy định: Trừ cồn thuốc chuẩn hóa (*standardised tincture*), cồn thuốc điều chế từ cao đặc, cao khô thì cao đặc, cao khô không được chứa các thành phần khác ngoài những thành phần được chiết xuất từ dược liệu, ngoại trừ một số trường hợp như cao đặc chứa các tá dược chống oxy hóa, chất ổn định hoặc chất bảo quản kháng vi sinh vật [5, 8].

Hoạt tính của cồn thuốc được biểu thị dưới dạng: 10 g dược liệu/100 mL (cồn thuốc có nguồn gốc thực vật chứa các thành phần có hoạt tính mạnh) hoặc 20 g dược liệu/100 mL (đa số các cồn thuốc) [1]. Ngoài lệ, BP và EP quy định cồn thuốc chuẩn hóa (*standardised tincture*) chỉ được xác định bằng hàm lượng các thành phần có tác dụng điều trị đã biết [5, 8]. Sự phân biệt giữa cao lỏng và cồn thuốc căn cứ vào dung môi sử dụng và tỷ lệ dung môi/dược liệu. Tỷ lệ này với cao lỏng thường từ 1-2 và với cồn thuốc thường từ 5-10 [21].

- *Cao đặc (cao mềm)*: Là khối đặc quánh. Hàm lượng dung môi sử dụng để chiết xuất còn lại trong cao  $\leq 20\%$ . Cao được điều chế bằng

cách cô loại dung môi từ dịch chiết dược liệu. Cao đặc thường kém ổn định và dễ bị khuẩn nên phần lớn được thay thế bằng cao khô. Ứng dụng chủ yếu của cao đặc là sản xuất các dạng thuốc bán rắn, thuốc rắn hoặc dùng trực tiếp.

Nhựa dầu (Oleoresin) cũng là một chế phẩm bán rắn từ dược liệu có nhiều đặc điểm giống với cao đặc. Theo BP và EP, nhựa dầu là những chế phẩm bán rắn chứa các chất nhựa (resin) trong dầu béo và/hoặc tinh dầu và được sản xuất bằng cách bốc hơi dung môi từ dịch chiết [5, 8]. Cần phân biệt nhựa dầu điều chế bằng phương pháp chiết xuất và nhựa dầu tự nhiên. Nhựa dầu Ổt chuẩn hóa (chứa 8-8,8% capsaicinoids, chiết xuất bằng ethanol  $\geq 90\%$ ) và nhựa dầu Ổt tinh chế, chuẩn hóa (chứa 12-18% capsaicinoids, chiết xuất bằng ethanol  $\geq 90\%$ ) là những chuyên luận chính thức trong BP 2020 [8].

- *Cao khô*: Là khối khô hoặc bột khô, đồng nhất, rất dễ hút ẩm, hàm ẩm  $\leq 5\%$ . Điều chế bằng cách cô loại dung môi từ dịch chiết dược liệu và sấy khô. Cao khô có độ ổn định tốt hơn cao đặc, thường được ứng dụng nhiều trong sản xuất các dạng thuốc rắn.

### 3.2. Phân loại theo chỉ tiêu định lượng

BP và EP còn phân biệt các cao dược liệu dựa vào sự có mặt của các thành phần có tác dụng điều trị đã biết hoặc các thành phần liên quan khác, gồm 3 loại: cao chuẩn hóa (*standardised extracts*), cao định lượng (*quantified extracts*) và cao khác (*other extracts*) [5, 8].

- *Cao chuẩn hóa (standardised extracts)*: được điều chỉnh đến một hàm lượng xác định ( $\pm$  sai số cho phép) của các thành phần có tác dụng điều trị đã biết. Việc này có thể đạt được bằng cách trộn các mẻ cao có hàm lượng khác nhau hoặc thêm tá dược trợ. “Hàm lượng xác định” có thể quy định theo 2 cách:

i) 1 giá trị hàm lượng xác định: Ví dụ 1 chuyên luận cao chuẩn hóa trong BP (EP) quy định hàm lượng chất được định lượng từ 1,8-2,2%  $\Rightarrow$  Hàm lượng xác định được hiểu là 2,0% ( $\pm 10\%$ ). Sai số thường là  $\pm 5\%$  hoặc  $\pm 10\%$  tùy thuộc vào bản chất của cao và phương pháp định

lượng. Tuy nhiên, giá trị này cũng thay đổi tùy theo từng trường hợp cụ thể;

ii) Khoảng hàm lượng xác định: Ví dụ 1 chuyên luận cao chuẩn hóa trong BP (EP) quy định hàm lượng chất được định lượng từ 15-30% => Hàm lượng xác định được hiểu là một giá trị bất kỳ trong khoảng này ( $\pm$  sai số cho phép, ví dụ  $\pm 10\%$ ).

Theo BP (EP), các thành phần có tác dụng điều trị đã biết là những thành phần được xác định về hóa học và được chấp nhận là có *đóng góp đáng kể* vào tác dụng điều trị của cao. Một số tác giả còn cho rằng, đây là những thành phần duy nhất chịu trách nhiệm về tác dụng của cao. Do đó, các thành phần này cần được chuẩn hóa đến một hàm lượng xác định [22].

Hệ quả: Trên nhãn *Thành phẩm từ dược liệu*, khối lượng cao được ghi trong một khoảng xác định tương ứng với một khối lượng xác định của thành phần có tác dụng điều trị đã biết [21, 23, 24]. Ví dụ: Công thức cho một viên nén:

+ Cao lá Phan tả diệp chuẩn hóa: 50-65 mg (tương ứng với 12,5 mg hydroxyanthracene glycosid, tính theo sennoside B).

+ Tá dược: Vừa đủ.

- *Cao định lượng (quantified extracts)*: được điều chỉnh hàm lượng các thành phần (thường là hoạt chất) trong một khoảng giới hạn cụ thể bằng cách trộn các mẻ cao có hàm lượng khác nhau. Việc thêm tá dược để điều chỉnh hàm lượng các thành phần trong cao là không được phép.

Trong cao định lượng, các hoạt chất đã biết có các tác dụng dược lý liên quan đến tác dụng của cao, chúng có thể có đóng góp vào hiệu quả lâm sàng, nhưng chưa có các bằng chứng về việc các hoạt chất này là những thành phần duy nhất chịu trách nhiệm về hiệu quả lâm sàng của cao. Do đó, việc đánh giá cao định lượng cần chú ý toàn diện đến các mặt hiệu quả, chất lượng và tính an toàn [22].

Hệ quả: Trên nhãn *Thành phẩm từ dược liệu*, khối lượng cao cố định, khối lượng các thành phần (thường là hoạt chất) được ghi trong một khoảng giới hạn [21, 23]. Ví dụ: Công thức cho một viên nang cứng:

+ Cao lá Bạch quả định lượng: 60 mg (chứa 13,2-16,2 mg flavonoid tính theo flavon

glycosid, 1,68-2,04 mg ginkgolid A, B và C, 1,56-1,92 mg bilobalid)

+ Tá dược: Vừa đủ.

- *Cao khác (other extracts)*: các cao dược liệu chưa (không) biết thành phần có tác dụng (điều trị), không được điều chỉnh đến một giá trị hàm lượng cụ thể của các chất đánh dấu phân tích (analytical markers). Các cao dược liệu này được xác định bằng quy trình sản xuất (trạng thái dược liệu, dung môi chiết, điều kiện chiết xuất,...) hoặc tiêu chuẩn riêng. Để kiểm soát chất lượng, một hoặc một số thành phần được sử dụng như là các chất đánh dấu phân tích. Hàm lượng tối thiểu của các chất này được quy định trong các chuyên luận riêng. Không được thêm tá dược nhằm mục đích điều chỉnh hàm lượng. Trong một số trường hợp, nhà sản xuất được phép lựa chọn các chất đánh dấu thay thế khác cho mục đích định lượng bằng các phương pháp phân tích được thẩm định nếu chất đánh dấu đó được chứng minh là phù hợp hơn để kiểm soát chất lượng. Nhà sản xuất cần đưa ra hàm lượng tối thiểu phù hợp cho các chất đánh dấu này.

Hệ quả: Trên nhãn *Thành phẩm từ dược liệu*, khối lượng cao được ghi cố định (+ hiệu suất chiết hoặc khối lượng dược liệu khô tương ứng với khối lượng cao khô) [21, 23, 24]. Ví dụ: Công thức cho một viên nén:

+ Cao khô ethanol 60% (tt/tt) Nữ lang: 125 mg (8:1) hoặc 125 mg tương ứng với 1000 mg rễ Nữ lang.

+ Tá dược: Vừa đủ.

Trong cách phân loại trên theo BP (EP), các chất đánh dấu được hiểu là những chất, nhóm chất có cấu trúc hóa học xác định (có thể có hoạt tính hoặc không) được sử dụng với mục đích kiểm soát chất lượng cao dược liệu. Chất đánh dấu còn được sử dụng để tính toán lượng cao dược liệu cần thiết trong công thức bào chế thuốc nếu chất đánh dấu đó được định lượng. Có 2 loại chất đánh dấu: *Chất đánh dấu có hoạt tính (hoạt chất, active markers)* là những chất hoặc nhóm chất được chấp nhận là có đóng góp vào tác dụng điều trị của cao và *Chất đánh dấu phân tích (analytical markers)* là những chất hoặc nhóm chất được sử dụng với mục đích phân tích (về mặt hóa học).

### 3.3. Phân loại theo thành phần

Một số Dược điển (Anh, châu Âu, Mỹ) phân biệt cao nguyên bản (native/genuine extract) là cao chỉ chứa các thành phần được chiết xuất từ dược liệu và cao không nguyên bản là cao còn chứa các tá dược trợ như dung môi (nước, cồn, dầu thực vật,...) hoặc các tá dược khác (maltodextrin, lactose, saccharose, silicon dioxit) cần thiết cho việc xử lý, chuẩn hóa cao dược liệu và các lý do kỹ thuật khác (tăng tính đồng nhất, điều chỉnh thể chất và/hoặc hàm lượng marker, bảo quản, tăng độ ổn định,...) [5, 8, 21].

### 3.4. Phân loại theo quy trình sản xuất

Ngoài ra, theo quy trình sản xuất có cao thô (crude extract) là cao chứa toàn bộ những chất chiết được từ dược liệu, trong quá trình sản xuất không xử lý gì thêm ngoài việc chiết xuất và cao tinh chế (refined/purified extract) là cao mà trong quá trình sản xuất có giai đoạn tinh chế loại tạp chất để làm tăng tỷ lệ các marker trong cao [5, 8].

### 3.5. Phân loại khác

Bên cạnh đó, cao dược liệu còn được phân loại theo dung môi chiết (ví dụ: cao nước, cao cồn, cao ether), phương pháp chiết (thuốc sắc, thuốc hãm, thuốc hầm), trạng thái dược liệu (cao dược liệu tươi, cao dược liệu khô, cao dược liệu chế biến) hoặc nguồn gốc dược liệu (cao thực vật, cao động vật, cao khoáng vật) [2].

## 4. Đặc trưng và kiểm soát chất lượng

### 4.1. Đặc trưng chất lượng

Khác với các đơn chất chiết xuất từ dược liệu, cao dược liệu là một chế phẩm chứa nhiều thành phần phức tạp, đặc trưng và phổ biến nhất [18, 25, 26]. Cao dược liệu có thể gồm các chất chuyển hóa sơ cấp (protein, lipid, acid amin và đường [27]) và các chất chuyển hóa thứ cấp (các chất phân tử nhỏ, hoạt chất hoặc các chất khác [28]) từ dược liệu. Tương tác giữa các thành

phần trong cao là hiện tượng phổ biến và rất phức tạp, xảy ra dưới nhiều hình thức như hiệp đồng tăng cường, hiệp đồng cộng hoặc đối kháng, theo cơ chế dược động học, dược lực học hoặc các cơ chế khác [13, 15-17]. Xét về sinh dược học, trong nhiều trường hợp, toàn bộ cao dược liệu được xem là hoạt chất. Tuy nhiên, khi một hoặc một số thành phần xác định về hóa học (đơn chất hoặc nhóm chất) được nghiên cứu cho thấy có tác dụng dược lý liên quan đến tác dụng của cao thì những thành phần này nên được chỉ ra và hàm lượng của chúng cần được điều chỉnh đến một mức nhất định [22]. Đây là cơ sở để tiêu chuẩn hóa chất lượng cao dược liệu, một trong những nhiệm vụ và xu hướng nghiên cứu phát triển quan trọng hiện nay. Tuy nhiên, các thành phần này trong cao dược liệu (có thể là hoạt chất, chất hiệp đồng, chất đối kháng) thường chưa được nhận diện và kiểm soát.

Trong quá trình sản xuất, cần đảm bảo nguyên tắc: (1) Cao dược liệu nên chứa, ít nhất là các hoạt chất chính hoặc thích hợp hơn là toàn bộ các hoạt chất từ dược liệu và (2) Cao dược liệu nên phản ánh được tác dụng, hiệu lực của dược liệu dùng để chiết xuất [20]. Do đó, để cao dược liệu đạt các yêu cầu tinh khiết, an toàn và hiệu quả, cần lưu ý một số điểm sau về tác dụng và đặc trưng chất lượng của nó để có những định hướng đúng trong nghiên cứu phát triển.

Tác dụng của cao dược liệu thường không chỉ do một hoạt chất nào đó mà do tác dụng hiệp đồng của nhiều hoạt chất trong cao. Các hoạt chất này có thể có cấu trúc hóa học tương tự nhau (cùng nhóm/phân nhóm hoạt chất) hoặc khác hẳn nhau. Ví dụ, rễ Đan sâm chứa hơn 49 diterpenoid quinon, 36 acid phenolic và 23 tinh dầu, trong đó diterpenoid quinon và acid phenolic được xem là những nhóm hoạt chất chính [29]. Do đó, nhiều loại cao đan sâm được sản xuất với tiêu chuẩn khác hẳn nhau như: cao nước chứa các hoạt chất acid phenolic thân nước, cao cồn chứa các hoạt chất diterpenoid quinon thân dầu và cao hỗn hợp chứa đồng thời 2 nhóm hoạt chất [30-33]. Trong đó, 2 sản phẩm đầu đã được đưa vào các chuyên luận chính thức trong Dược điển Trung Quốc (Chinese Pharmacopoeia, CP 2015) [9]. Đồng thời, cơ chế và đích tác dụng của chúng cũng có



thể giống hoặc khác nhau [20, 25, 34]. Ngoài ra, khác với các đơn chất tinh khiết, cao dược liệu thường tác dụng đa đích do bản chất nhiều thành phần [13, 26, 35, 36]. Cơ chế hiệp đồng dược lực học giữa các hoạt chất trong cao dược liệu đã được ghi nhận ở nhiều nghiên cứu [13, 15-17]. Điều này phù hợp với thực tiễn sử dụng cao dược liệu cho nhiều tình trạng bệnh lý phức tạp, đa nguyên nhân hơn là các đơn chất tinh khiết [13, 34].

Tác dụng của các hoạt chất chính trong cao dược liệu có thể tăng nhờ các thành phần khác được chiết cùng từ dược liệu, mặc dù chúng không có tác dụng dược lý cụ thể. Thật vậy, nhiều nghiên cứu cho thấy sinh khả dụng của hoạt chất trong cao dược liệu cao hơn nhiều lần so với sinh khả dụng của hoạt chất đó ở dạng tinh khiết, liều gây tác dụng (quy đổi theo hoạt chất) của nhiều cao dược liệu thấp hơn đáng kể so với liều gây tác dụng của đơn chất tinh khiết [18, 34]. Cơ chế của hiện tượng này được nhiều tác giả giải thích là do tác dụng hiệp đồng giữa các thành phần trong cao, ví dụ về dược động học [13, 17]. Hiệp đồng dược động học có thể diễn ra ở giai đoạn hấp thu, phân bố, chuyển hóa hoặc thải trừ. Trong thực tế, tác dụng hiệp đồng giữa các thành phần trong cao dược liệu ở giai đoạn phân bố và chuyển hóa đã được chứng minh. Chi *Berberis* chứa berberin, là chất nền của p-glycoprotein (P-gp) và thể hiện hoạt tính kháng sinh yếu (MIC~150 µg/mL [37]), và 5'-methoxyhydnocarpin, một flavonolignan không có hoạt tính kháng khuẩn nhưng là chất ức chế P-gp mạnh. Sử dụng 5'-methoxyhydnocarpin làm tăng nhập bào của berberin. Đặc biệt, 5'-methoxyhydnocarpin không phải là chất nền cation nên có cơ chế hoạt động khác với nhiều chất ức chế đa kháng thuốc khác. Do đó, cao dược liệu một số loài thuộc chi *Berberis* có tác dụng kháng khuẩn tốt hơn berberin tinh khiết [38]. Artemisinin, một hoạt chất chính trong cao Thanh cao hoa vàng, bị chuyển hóa mạnh bởi enzyme cytochrome P450 (CYP) (như CYP2B6 và CYP3A4). Một chất khác trong cao là arteannuin B có tác dụng ức chế CYP3A4 ở gan (IC<sub>50</sub> = 1,2 µM) và làm tăng giá trị AUC<sub>0-t</sub> (2,1 lần) và nồng độ đỉnh (C<sub>max</sub>, 1,9 lần) của

artemisinin khi dùng đường uống trên chuột [39]. Trong tương tác dược động học, vai trò của các chất chiết cùng trong cao dược liệu đến quá trình hấp thu hoạt chất qua đường tiêu hóa xảy ra phổ biến hơn cả. Thực vậy, để phân biệt đặc điểm dược động học của berberin tinh khiết và berberin trong cao thân rễ Hoàng liên (*Coptidis Rhizoma*), quá trình hấp thu ở ruột đóng vai trò quan trọng [40]. Một số cơ chế hiệp đồng dược động học trong giai đoạn hấp thu gồm liên quan đến việc tăng độ tan, tăng tính thấm qua màng tế bào hấp thu với hoạt chất, giảm hoạt động của bơm tổng ngược thuốc ở ruột, mở khớp nối chặt, giảm chuyển hóa thuốc ở ruột, giảm chuyển hóa thuốc phase I/II hoặc tạo “hiệu ứng nano tự nhiên” [18, 41, 42]. Polyphenol và saponin, có mặt trong nhiều cao dược liệu, thường là những thành phần có tác dụng làm tăng độ tan và tăng hấp thu, do đó làm tăng sinh khả dụng và tác dụng của nhiều hoạt chất. Cao lá Cà độc dược (*Atropa belladonna*) với hoạt chất chính là l-hyoscyamin thể hiện tác dụng tốt vì trong cao có flavonol-triglycosid giúp tăng độ tan và tăng hấp thu [13]. Hypericin, một hoạt chất có tác dụng an thần nhẹ (ức chế enzyme monoamine oxidase) trong cây Ban âu (*Hypericum perforatum*) do thân dầu, rất ít tan trong nước và sinh khả dụng rất thấp. Tuy nhiên, khi phối hợp hypericin với các polyphenols, epicatechin, procyanidin, hyperosid hoặc rutin (những thành phần thường có trong cao ban âu) thì độ tan, tính thấm, sinh khả dụng và tác dụng chống trầm cảm của hypericin tăng rõ rệt [13, 41, 43]. Đặc biệt “hiệu ứng nano tự nhiên”, một hiện tượng phổ biến trong cao dược liệu đã làm thay đổi con đường hấp thu, tăng sinh khả dụng của nhiều hoạt chất khi sử dụng ở dạng cao dược liệu như berberin trong chi Hoàng liên (*Coptidis Rhizoma*) [42], daidzein và các hoạt chất trong Sắn dây (*Puerariae thomsonii*) [44] và nhiều hoạt chất khác [18]. Với những ưu điểm như tăng độ tan, tăng hấp thu và cải thiện các đặc điểm dược động học của hoạt chất, công nghệ nano được ứng dụng trong nghiên cứu phát triển nhiều thuốc dược liệu [45]. Điều thú vị là, nhiều hệ nano xuất hiện tự nhiên được phát hiện trong nhiều cao dược liệu với các đặc tính kích thước, hình thái

và thành phần rất đa dạng [46, 47]. Cần chú ý nghiên cứu những hiện tượng, tương tác này trong cao dược liệu để có những hiểu biết rõ hơn về bản chất dược của sản phẩm này.

Tương tự, tác dụng không mong muốn hoặc độc tính của một số cao dược liệu thấp hơn so với hoạt chất tinh khiết. Điều này cũng được lý giải một phần do ảnh hưởng của các chất được chiết cùng từ dược liệu thông qua cơ chế dược động học (ví dụ: giảm độ tan, giảm hấp thu, tăng chuyển hóa phase I/II, tăng thải trừ thành phần gây độc tính [41]). Ví dụ, glycyrrhizin được xem là một trong những hoạt chất chính trong cao rễ cam thảo (chiếm 10-25%). Các nghiên cứu *in vivo* và trên lâm sàng cho thấy cả cao rễ Cam thảo và glycyrrhizin đều có tác dụng chống loét, kháng virus và bảo vệ gan. Tuy nhiên, glycyrrhizin có tác dụng phụ là gây tăng huyết áp và gây phù. Cantelli-Forti và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết rễ Cam thảo đến dược động học glycyrrhizin trên chuột và người. Kết quả cho thấy, khi sử dụng dưới ở dạng cao dược liệu, cả AUC và  $C_{max}$  của glycyrrhizin đều giảm so với khi sử dụng ở dạng tinh khiết. Các thử nghiệm lâm sàng cũng chứng minh rằng, sử dụng cao rễ cam thảo an toàn hơn so với sử dụng glycyrrhizin tinh khiết [48]. Do đó, cần đặc biệt chú ý khi tinh chế cao dược liệu, nhiều trường hợp làm giảm tác dụng và/hoặc tính an toàn của phân đoạn có hoạt tính hoặc hoạt chất khi tinh chế không phù hợp vì các thành phần được chiết cùng từ dược liệu đã bị loại bỏ trong quá trình tinh chế [14, 18].

Liên quan đến quá trình sản xuất, cao dược liệu có các đặc trưng sau:

- *Tính đồng đều*: Sự dao động về chất lượng giữa các lô sản phẩm lớn do thành phần phức tạp, hoạt chất kém ổn định, dao động về chất lượng dược liệu đầu vào trong sản xuất, khó đạt độ đồng nhất và khó kiểm soát quy trình [21].

- *Tính ổn định*: Phần lớn cao dược liệu có hàm lượng hoạt chất thấp và kém ổn định do cao lẫn nhiều tạp chất. Tính ổn định của quy trình sản xuất từ quy mô nghiên cứu lên quy mô pilot và quy mô sản xuất thực tế khó đạt được.

- *Tính an toàn*: Cao dược liệu không tinh khiết do lẫn các tạp chất (kim loại nặng, chất bảo

vệ thực vật, vi sinh vật, nội độc tố, chất gây sốt,...) từ dược liệu hoặc trong quy trình sản xuất [49, 50]. Cao dược liệu bị giả mạo (bị trộn tân dược, trộn dược liệu/cao dược liệu khác,...) nên kém an toàn. Một số thuốc tân dược đã bị phát hiện trộn trái phép trong cao dược liệu thuộc các nhóm dược lý như giảm đau, kháng viêm; an thần; tim mạch; kháng histamin; lợi tiêu; đái tháo đường [49]. Ví dụ, cao lá Bạch quả là một sản phẩm rất nổi tiếng và đã được đưa vào nhiều Dược điển, tuy nhiên nhiều cao lá Bạch quả giả mạo đã bị phát hiện. Nhiều tác giả đã phát hiện sự có mặt của flavonol glycosid rutin, các flavonol aglycon quercetin, kaempferol, isorhamnetin và thậm chí cả các isoflavon genistein, genestin trong cao lá Bạch quả giả mạo vì lá Bạch quả chứa các flavonol glycosid của quercetin, kaempferol, isorhamnetin, hàm lượng rutin và các flavonol aglycon rất thấp và đặc biệt lá Bạch quả không có genistein và genestin [51, 52].

#### 4.2. Kiểm soát chất lượng

Do sự phức tạp vốn có về thành phần, việc kiểm soát chất lượng cao dược liệu thực sự là một thách thức. Rất khó để định tính và định lượng cao dược liệu, chưa kể việc phát hiện các trường hợp giả mạo đòi hỏi phải phối hợp toàn diện nhiều biện pháp. Việc định tính sử dụng chất đánh dấu và định lượng các chất đánh dấu đang là một trong những phương pháp phổ biến và tương đối dễ tiếp cận hiện nay trong kiểm soát chất lượng cao dược liệu nói riêng và thuốc dược liệu nói chung [33]. Mặc dù, chỉ mỗi bản thân công cụ này không đủ để đảm bảo chất lượng cao dược liệu mà kiểm soát chất lượng phải bao gồm cả việc kiểm soát các bước trong quá trình sản xuất và phải được bổ sung bằng các quy định trong Thực hành tốt nuôi trồng, thu hái dược liệu (Good Agricultural and Collection Practice, GACP), Thực hành tốt chiết xuất dược liệu (Good Extraction Practice, GEP) Thực hành tốt sản xuất thuốc có nguồn gốc dược liệu (Good Manufacturing Practice, GMP) [6, 21]. Tiêu chí lựa chọn chất đánh dấu và kiểm soát chất lượng cao dược liệu cần quan tâm đến việc các thành phần đa dạng sẽ có những ảnh hưởng ở các mức

độ khác nhau tới chất lượng, an toàn và hiệu lực của thuốc. Vì lý do đó, WHO đã có hướng dẫn về lựa chọn chất đối chiếu trong định tính và định lượng thuốc từ dược liệu (trong đó có cao dược liệu) [6]. Thứ tự ưu tiên trong lựa chọn chất đánh dấu như sau: (1) Thành phần có tác dụng điều trị đã biết, (2) Thành phần có tác dụng dược lý đã được ghi nhận (đã được nghiên cứu) và (3) Thành phần đặc trưng;

Cần lưu ý rằng việc định tính các “nguyên liệu từ dược liệu”, và ở một mức độ nào đó là các “ché phẩm từ dược liệu” và “thành phẩm từ dược liệu” có thể thực hiện hoặc có thể bổ sung bằng phương pháp hiển vi, phân tích hình thái hoặc phân tích DNA, sử dụng các nguyên liệu đối chiếu và các mô tả phù hợp. Các chất đánh dấu sử dụng làm các chất đối chiếu hóa học nên là các chất hóa học quốc tế hoặc chất đối chiếu được điển. Nếu theo các quy chuẩn khác, các

chất đánh dấu cho phân tích định lượng nên có độ tinh khiết cao như yêu cầu bởi các quy chuẩn quốc gia, được xác định bằng các phương pháp phân tích được thẩm định, bao gồm phương pháp vật lý và hóa học. Các phương pháp phân tích này có thể khác với các phương pháp sử dụng trong định lượng “nguyên liệu từ dược liệu”. Các chất đánh dấu cho phân tích định tính có thể có độ tinh khiết thấp hơn. Yêu cầu chung với các chất đánh dấu gồm: Có tính nhận diện, tính đặc hiệu và tính chọn lọc sử dụng các phương pháp phân tích cụ thể; nên có hàm lượng vết trong phân tích định tính hoặc đủ lớn cho phân tích định lượng; nên dễ kiểm, ổn định trong điều kiện bảo quản xác định; nên dễ phát hiện và dễ phân tích định lượng. Mục đích và vai trò, yêu cầu và tiêu chí lựa chọn các chất đánh dấu cụ thể cho từng nhóm thành phần trong thuốc từ dược liệu được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Hướng dẫn của WHO trong lựa chọn chất đánh dấu để kiểm soát chất lượng thuốc dược liệu [6]

Loại chất đánh dấu (marker)	Mục đích và vai trò	Yêu cầu	Tiêu chí lựa chọn
Chất đánh dấu của nhóm thành phần có tác dụng điều trị đã biết.	Định tính, định lượng.	(-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sẵn có (Ví dụ: là chất đối chiếu quốc tế hoặc dược điển). Các chất đánh dấu khác chỉ có thể lựa chọn khi không có sẵn các chất đối chiếu kia. Trong trường hợp đó, cần có hồ sơ chi tiết về việc nhận diện và đặc tính của chúng;</li> <li>- Nên dễ phân tách hoặc phân biệt với các thành phần có cấu trúc tương tự trong dược liệu khi phân tích;</li> <li>- Nên được phát hiện và định lượng bằng các phương pháp phân tích dụng cụ (TLC, HPTLC, GC, HPLC);</li> <li>- Các chất đánh dấu khác nhau có thể được lựa chọn cho cùng một thuốc từ dược liệu phụ thuộc vào phương pháp phân tích dụng cụ sẵn có.</li> </ul>
Chất đánh dấu của nhóm thành phần có tác dụng dược lý đã được ghi nhận.	Định tính, định lượng.	(-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sẵn có với hàm lượng đủ lớn;</li> <li>- Chất đánh dấu định lượng: nên đại diện cho thông tin dược lý hoặc điều trị chính;</li> <li>- Chất đánh dấu định tính: nên đặc hiệu cho một dược liệu hoặc cho một số loài và chi thực vật. Nếu không, các chất đánh dấu khác nên được lựa chọn để nhận diện đặc hiệu;</li> </ul>

			<ul style="list-style-type: none"> <li>-Nên được phát hiện và định lượng bằng các phương pháp phân tích dụng cụ sẵn có (TLC, HPTLC, GC, HPLC) hoặc bằng phương pháp phân tích liên quan khác;</li> <li>- Nhiều chất đánh dấu khác nhau có thể được lựa chọn cho một dược liệu phụ thuộc vào các dạng khác nhau của các chế phẩm từ dược liệu (ví dụ cao cồn và cao nước) hoặc các chỉ định điều trị khác nhau;</li> <li>- Một nhóm các chất đánh dấu có thể được lựa chọn nếu một chất đánh dấu không đủ để đánh giá.</li> </ul>
Chất đánh dấu của nhóm thành phần đặc trưng.	Định tính, định lượng.	<p>Chất đánh dấu định tính: Nên đặc hiệu cho một thực vật. Nếu không nên đặc hiệu cho một loài, chi, họ thực vật nhất định. Nếu không đặc hiệu cho một thực vật, thì nên đặc hiệu ít nhất cho một nguyên liệu từ dược liệu hoặc chế phẩm từ dược liệu trong chế phẩm từ dược liệu hỗn hợp hoặc thuốc từ dược liệu hỗn hợp. Nên gồm một hoặc một nhóm các chất hoặc kiểu mẫu đặc trưng của các chất. (<i>Lưu ý</i>: Một kiểu mẫu của các chất mà đặc trưng cho một dược liệu cụ thể có thể thay thế cho một đơn chất).</p> <p>Chất đánh dấu định lượng: Cần có sẵn với hàm lượng đủ lớn để định lượng.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nên có hàm lượng đủ lớn;</li> <li>- Nên có sẵn một chất đối chiếu được giám định;</li> <li>- Dữ liệu phổ của chất đánh dấu nên được ghi trong thư viện hoặc cơ sở dữ liệu có sẵn;</li> <li>- Dữ liệu TLC hoặc các phép định tính bằng phân tích khác nên được minh họa trong một nguồn dữ liệu sẵn có;</li> <li>- Nên có các thí nghiệm định tính và định lượng được mô tả cho chất đánh dấu đó hoặc lớp chất hóa học của nó;</li> <li>- Nên có đủ bằng chứng thực nghiệm rằng chất đánh dấu hoặc các chất đánh dấu lựa chọn là đặc trưng.</li> </ul>
Chất đánh dấu của nhóm thành phần độc tính.	Xác định hàm lượng tối đa cho phép của các thành phần độc tính.	<p>Cần có giới hạn chấp nhận trên xác định cho các mục đích ứng dụng và liều dự kiến (ví dụ: uống, tại chỗ, hít, dùng ngắn hạn, dài ngày hoặc kinh niên).</p> <p>Cần có các đánh giá độc tính, nhưng kinh nghiệm sử dụng theo cổ truyền cũng cần được xem xét. Khi thiết lập các tiêu chí độc tính, cần cân nhắc các độc tính trên gen, đột biến và ung thư. Cần có quy trình phát hiện ở mức phân tích cho các giới hạn chấp nhận được thiết lập. Các yêu cầu này nên luôn cần đạt được với các thành phẩm từ dược liệu dùng cho người, bởi vì quá trình xử lý và chuyển dạng có thể làm thay đổi độc tính.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nên có sẵn các chất đối chiếu thích hợp;</li> <li>- Để nhận diện, tính đặc hiệu và tính chọn lọc là những đặc trưng quan trọng;</li> <li>- Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng cho các thuốc nghiên cứu cần cụ thể;</li> <li>- Nên có sẵn các phương pháp phân tích dụng cụ có độ nhạy cao (TLC, HPTLC, GC, HPLC, GC/MS, LC/MS) để phát hiện các chất có độc tính;</li> <li>- Nên có sẵn các thí nghiệm định tính đơn giản với các nhóm chất có độc tính (ví dụ alkaloid hoặc terpenoid).</li> </ul>

Một công cụ khác để kiểm soát chất lượng thuốc từ dược liệu được WHO khuyến cáo là sử dụng các *nguyên liệu đối chiếu* (reference material). Nhiều loại *nguyên liệu đối chiếu* được sử dụng như là những công cụ bổ sung cho các phương pháp phân tích sử dụng các chất đánh dấu, và đặc biệt khi không có sẵn các chất đối chiếu của các chất đánh dấu đã đề cập ở trên. *Nguyên liệu đối chiếu* cũng có thể được sử dụng khi có sẵn các chất đánh dấu, nhưng các chất đánh dấu không đủ để nhận diện. Ví dụ, thuốc từ dược liệu có thể chứa một nhóm các chất đặc trưng hoặc các thành phần có tác dụng dược lý được ghi nhận, như là flavonoid, alcaloid và saponin chứ không phải chỉ một chất nào đó. Có những trường hợp (ví dụ: cao dược liệu được xác định rõ về hóa học) khi mà các *nguyên liệu đối chiếu* có thể ổn định hơn các chất đối chiếu tinh khiết (chuẩn đối chiếu gốc và chuẩn làm việc). Việc lựa chọn *nguyên liệu đối chiếu* hay các chất đối chiếu phụ thuộc vào sự sẵn có, giá và độ ổn định. Cần chú ý rằng, *nguyên liệu đối chiếu* được sử dụng cho mục đích định tính và định lượng. Tiêu chí lựa chọn (ví dụ: cao dược liệu đối chiếu) như sau:

+ Cao dược liệu đối chiếu nên được điều chế theo quy trình thao tác chuẩn và các đặc trưng và/hoặc hoạt chất nên được chứng minh rõ trên sắc ký đồ (thu được bằng các phương pháp phân tích dụng cụ như sắc ký lớp mỏng (thin layer chromatography, TLC), sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao (high performance thin layer chromatography, HPTLC), sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography, HPLC), sắc ký khí (gas chromatography, GC)), phổ (phổ cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance, NMR), phổ khối (mass spectrometry, MS)) hoặc kết hợp sắc ký và phổ (sắc ký lỏng khối phổ (liquid chromatography mass spectrometry, LC/MS), sắc ký khí khối phổ (gas chromatography mass spectrometry, GC/MS)) dưới những điều kiện cụ thể.

+ Cao dược liệu đối chiếu và các hoạt chất chính nên ổn định và có thể nhận diện bằng các thiết bị và phương pháp phân tích sẵn có.

+ Nên có các tiêu chí cơ sở xác định trước về việc sẽ sử dụng cao dược liệu đối chiếu như thế nào để định danh một sản phẩm từ dược liệu cụ thể được sản xuất bởi các nhà sản xuất.

## 5. Kết luận

Xu hướng ứng dụng cao dược liệu thay thế dược liệu truyền thống trong sử dụng và bào chế các dạng thuốc ngày càng tăng. Bên cạnh sự phân loại theo thể chất trong hầu hết các Dược điển, BP và EP thể hiện sự tiến bộ và chặt chẽ khi có sự phân loại theo tiêu chí định lượng dựa vào sự có mặt của các thành phần có tác dụng điều trị đã biết hoặc các thành phần liên quan khác (gồm cao chuẩn hóa, cao định lượng và cao dược liệu khác). Cao dược liệu có nhiều đặc trưng về chất lượng cần đặc biệt chú ý trong nghiên cứu phát triển. Kiểm soát chất lượng cao dược liệu là một thách thức, trong đó việc sử dụng các chất đánh dấu và nguyên liệu đối chiếu là một trong những hướng tương đối dễ tiếp cận hiện nay. Cần đẩy mạnh các nghiên cứu sâu hơn về “bản chất dược” của cao dược liệu để đáp ứng được mục tiêu chủ động về nguồn nguyên liệu cao dược liệu trong nước, theo định hướng phát triển Công nghiệp Dược trong thời gian tới.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Ministry of Health, Vietnamese Pharmacopoeia 5, Medical Publisher, Hanoi, 2018 (in Vietnamese).
- [2] Hanoi University of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Industry, Extraction Technique for Medicinal Plants, Medical Publisher, Hanoi, 2017 (in Vietnamese).
- [3] P. H. List, P. C. Schmidt, Phytopharmaceutical Technology, Wiley-Blackwell, United States, 1991.
- [4] United State Pharmacopoeial Convention, United State Pharmacopoeia 43, Rockville, MD, United State, 2020.
- [5] European Pharmacopoeia Commission, European Pharmacopoeia 10, Council of Europe Publishing Editions, France, 2019.
- [6] WHO, WHO Guidelines for Selecting Marker Substances of Herbal Origin for Quality Control of

- Herbal Medicines, WHO Technical Report Series, No. 1003, 2017, pp. 71-86.
- [7] European Medicines Agency, Reflection Paper on The Level of Purification of Extracts To Be Considered as Herbal Preparations, EMA/HMPC/186645/2008, London, 2010.
- [8] British Pharmacopoeia Commission, British Pharmacopoeia 2020, TSO, London, 2020.
- [9] Chinese Pharmacopoeia Commission, Chinese Pharmacopoeia 2015, People's Medical Publishing House, China, 2015.
- [10] C. Ma, O. R. Hellen, N. C. Kim, M. Monagas, A. Bzhelyansky, N. Sarma, G. Giancaspro, Quality Specifications for Articles of Botanical Origin from the United States Pharmacopoeia, *Phytomedicine*, Vol. 45, 2018, pp. 105-119, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.014>.
- [11] J. J. Pan, S. Y. He, J. Y. Shao, N. Li, Y. Q. Gong, X. C. Gong, Critical Pharmaceutical Process Identification Considering Chemical Composition, Biological Activity, and Batch-to-Batch Consistency: A Case Study of Notoginseng Total Saponins, *Chinese Herbal Medicines*, Vol. 12, No. 1, 2020, pp. 29-35, <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2019.11.002>.
- [12] M. A. Elfawal, M. J. Towler, N. G. Reich, P. J. Weathers, S. M. Rich, Dried Whole-Plant *Artemisia annua* Slows Evolution of Malaria Drug Resistance and Overcomes Resistance to Artemisinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 112, No. 3, 2015, pp. 821-826, <https://doi.org/10.1073/pnas.1413127112>.
- [13] H. Wagner, G. U. Merzenich, Synergy Research: Approaching a New Generation of Phytopharmaceuticals, *Phytomedicine*, Vol. 16, No. 2-3, 2009, pp. 97-110, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.12.018>.
- [14] M. S. Barbara, M. R. David, E. L. Peter, R. Ilya, Revisiting the Ancient Concept of Botanical Therapeutics, *Nature Chemical Biology*, Vol. 3, No. 7, 2007, pp. 360-366, <https://doi.org/10.1038/nchembio0707-360>.
- [15] X. Zhou, S. W. Seto, D. Chang, H. Kiat, V. Razmovski-Naumovski, K. Chan, A. Bensoussan, Synergistic Effects of Chinese Herbal Medicine: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research, *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 7, 2016, pp. 201-216, <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00201>.
- [16] L. K. Caesar, N. B. Cech, Synergy and Antagonism in Natural Product Extracts: When 1 + 1 does not Equal 2, *Natural Product Reports*, Vol. 36, No. 6, 2019, pp. 869-888, <https://doi.org/10.1039/c9np00011a>.
- [17] Y. Yang, Z. Zhang, S. Li, X. Ye, X. Li, K. He, Synergy Effects of Herb Extracts: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Basis, *Fitoterapia*, Vol. 92, 2014, pp. 133-147, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.10.010>.
- [18] Q. Zhao, X. Luan, M. Zheng, X. H. Tian, J. Zhao, W. D. Zhang, B. L. Ma, Synergistic Mechanisms of Constituents in Herbal Extracts during Intestinal Absorption: Focus on Natural Occurring Nanoparticles, *Pharmaceutics*, Vol. 12, No. 2, 2020, pp. 128-146, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020128>.
- [19] M. Ekor, The Growing Use of Herbal Medicines: Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitoring Safety, *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 4, 2014, pp. 177-186, <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00177>.
- [20] J. Chen, F. S. C. Lee, L. Li, B. Yang, X. Wang, Standardized Extracts of Chinese Medicinal Herbs: Case Study of Danshen (*Salvia Miltiorrhiza* Bunge), *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 15, No. 4, 2007, pp. 347-364, <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2386>.
- [21] A. Vlietinck, L. Pieters, S. Apers, Legal Requirements for the Quality of Herbal Substances and Herbal Preparations for the Manufacturing of Herbal Medicinal Products in the European Union, *Planta Medica*, Vol. 75, No. 7, 2009, pp. 683-688, <https://doi.org/10.1055/s-0029-1185307>.
- [22] N. P. Yadav, V. K. Dixit, Recent Approaches in Herbal Drug Standardization, *International Journal of Integrative Biology*, Vol. 2, No. 3, 2008, pp. 195-203.
- [23] European Medicines Agency, Guideline on Declaration of Herbal Substances And Herbal Preparations in Herbal Medicinal Products/Traditional Herbal Medicinal Products, EMA/HMPC/CHMP/CVMP/287539/2005, London, 2010.
- [24] WHO, WHO guidelines on good manufacturing practices (GMP) for herbal medicines, WHO press, Switzerland, 2007.
- [25] A. Dekebo, Traditional Chinese Medicine: from Aqueous Extracts to Therapeutic Formulae, J. Wang, A. Sasse, H. Sheridan, *Plant Extracts*, Intech Open, London, 2019, pp. 1-29, <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.85733>.
- [26] C. Zhang, X. Zheng, H. Ni, P. Li, H. J. Li, Discovery of Quality Control Markers from Traditional Chinese Medicines by Fingerprint-Efficacy Modeling: Current Status and Future

- Perspectives, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 159, 2018, pp. 296-304, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.006>.
- [27] H. Sheridan, B. Kopp, L. Krenn, D. Guo, J. Sendker, Traditional Chinese Herbal Medicine Preparation: Invoking the Butterfly Effect, *Science*, Vol. 350, No. 6262, 2015, pp. S64-S66.
- [28] J. W. H. Li, J. C. Vederas, Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier?, *Science*, Vol. 325, No. 5937, 2009, pp. 161-165, <https://doi.org/10.1126/science.1168243>.
- [29] H. Pang, L. Wu, Y. Tang, G. Zhou, C. Qu, J. A. Duan, Chemical Analysis of the Herbal Medicine *Salvia miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (Danshen), *Molecules*, Vol. 21, No. 1, 2016, pp. 51, <https://doi.org/10.3390/molecules21010051>.
- [30] T. T. Bien, P. T. L. Giang, P. T. H. Van, Extraction of Tanshinones Rich Extract of Danshen (*Salvia miltiorrhiza Bunge*) Root Using Adsorptive (Non-Ionic) Macroporous Resins, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 37, No. 3, 2021, pp. 59-66, <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4333> (in Vietnamese).
- [31] T. T. Bien, N. T. P. Dung, N. T. Tam, D. H. Hoang, H. V. Oanh, C. T. T. Huyen, B. T. T. Luyen, Study on Extraction and Enrichment of Acid salvianolic B and Tanshinon IIA from *Salvia miltiorrhiza* Root by Macroporous Resin, *Journal of Medicine and Pharmacy*, Vol. 11, No. 8, 2020, pp. 42-49 (in Vietnamese).
- [32] T. T. Bien, N. H. Yen, B. T. T. Luyen, N. V. Han, Preliminary Study on Preparation of Dripping Pills of *Salvia miltiorrhiza Bunge* and *Panax notoginseng Burk.* Grown in Vietnam, *Pharmaceutical Journal*, Vol. 58, No. 510, 2018, pp. 43-48 (in Vietnamese).
- [33] T. T. Bien, B. T. T. Luyen, Development of a Method for Quantitative Analysis of Danshensu in Danshen (*Salvia miltiorrhiza Bunge*) Extract by High Performance Liquid Chromatography, *Journal of Medicinal Materials*, Vol. 25, No. 4/2020, 2020, pp. 236-241 (in Vietnamese).
- [34] G. U. Merzenich, H. Zeitler, D. Jobst, D. Panek, H. Vetter, H. Wagner, Application of the -Omic-Technologies in Phytomedicine, *Phytomedicine*, Vol. 14, No. 1, 2007, pp. 70-82, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.11.011>.
- [35] W. Zhou, B. Cai, J. Shan, S. Wang, L. Di, Discovery and Current Status of Evaluation System of Bioavailability and Related Pharmaceutical Technologies for Traditional Chinese Medicines-Flos *Lonicerae Japonicae*-Fructus *Forsythiae* Herb Couples as an Example, *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 16, No. 12, 2015, pp. 28812-28840, <https://doi.org/10.3390/ijms161226132>.
- [36] O. Pelkonen, Q. Xu, T. P. Fan, Why is Research on Herbal Medicinal Products Important and How Can We Improve Its Quality?, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, Vol. 4, No. 1, 2014, pp. 1-7, <https://doi.org/10.4103/2225-4110.124323>.
- [37] K. A. Ettefagh, J. T. Burns, H. A. Junio, G. W. Kaatz, N. B. Cech, Goldenseal (*Hydrastis canadensis L.*) Extracts Synergistically Enhance the Antibacterial Activity of Berberine via Efflux Pump Inhibition, *Planta Medica*, Vol. 77, No. 8, 2011, pp. 835-840, <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250606>.
- [38] F. R. Stermitz, P. Lorenz, J. N. Tawara, L. A. Zenewicz, K. Lewis, Synergy in a Medicinal Plant: Antimicrobial Action of Berberine Potentiated by 5'-methoxyhydnoicarpin, a Multidrug Pump Inhibitor, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 97, No. 4, 2000, pp. 1433-1437, <https://doi.org/10.1073/pnas.030540597>.
- [39] T. Y. Cai, Y. R. Zhang, J. B. Ji, J. Xing, Investigation of the Component in *Artemisia annua L.* Leading to Enhanced Antiplasmodial Potency of Artemisinin via Regulation of Its Metabolism, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 207, 2017, pp. 86-91, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.06.025>.
- [40] Q. Li, Y. Yang, T. Zhou, R. Wang, N. Li, M. Zheng, Y. Y. Li, J. Q. Zhang, F. Wu, B. C. Yang, Y. M. Ma, B. L. Ma, A Compositive Strategy to Study the Pharmacokinetics of TCMs: Taking *Coptidis Rhizoma*, and *Coptidis Rhizoma-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* as Examples, *Molecules*, Vol. 23, No. 8, 2018, pp. 2042-2053, <https://doi.org/10.3390/molecules23082042>.
- [41] N. Adolf, B. Veronika, Lessons Learned from Herbal Medicinal Products: The Example of St. John's Wort, *Journal of Natural Products*, Vol. 73, 2010, pp. 1015-1021, <https://doi.org/10.1021/np1000329>.
- [42] B. L. Ma, C. Yin, B. K. Zhang, Y. Dai, Y. Q. Jia, Y. Yang, Q. Li, R. Shi, T. M. Wang, J. S. Wu, Y. Y. Li, G. Lin, Y. M. Ma, Naturally Occurring Proteinaceous Nanoparticles in *Coptidis Rhizoma* Extract Act as Concentration-Dependent Carriers that Facilitate Berberine Absorption, *Scientific Reports*, Vol. 6, 2016, pp. 20110-20120, <https://doi.org/10.1038/srep20110>.

- [43] V. Butterweck, G. Jürgenliemk, A. Nahrstedt, H. Winterhoff, Flavonoids from *Hypericum perforatum* Show Antidepressant Activity in the Forced Swimming Test, *Planta Medica*, Vol. 66, No. 1, 2000, pp. 3-6, <https://doi.org/10.1055/s-2000-11119>.
- [44] G. Wang, C. Yang, K. Zhang, J. Hu, W. Pang, Molecular Clusters Size of *Puerariae thomsonii* Radix Aqueous Decoction and Relevance to Oral Absorption, *Molecules*, Vol. 20, No. 7, 2015, pp. 12376-12388, <https://doi.org/10.3390/molecules200712376>.
- [45] Y. Liu, N. Feng, Nanocarriers for The Delivery of Active Ingredients and Fractions Extracted from Natural Products Used in Traditional Chinese Medicine (TCM), *Advances in Colloid and Interface Science*, Vol. 221, 2015, pp. 60-76, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.04.006>.
- [46] R. Gröning, J. Breitkreutz, R. S. Müller, Physico-chemical Interactions Between Extracts of *Hypericum perforatum* L. and Drugs, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol. 56, No. 2, 2003, pp. 231-236, [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(03\)00094-8](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(03)00094-8).
- [47] Y. Zhuang, J. Yan, W. Zhu, L. Chen, D. Liang, X. Xu, Can the Aggregation be a New Approach for Understanding the Mechanism of Traditional Chinese Medicine?, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 117, No. 2, 2008, pp. 378-384, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.02.017>.
- [48] G. C. Forti, F. Maffei, R. Hrelia, F. Bugamelli, M. Bernardi, R. D'Intino, M. Maranesi, M. A. Raggi, Interaction of Licorice on Glycyrrhizin Pharmacokinetics, *Environmental Health Perspectives*, Vol. 102, No. 9, 1994, pp. 65-68, <https://doi.org/10.1289/ehp.94102s965>.
- [49] J. Zhang, B. Wider, H. Shang, X. Li, E. Ernst, Quality of Herbal Medicines: Challenges and Solutions, *Complementary Therapies in Medicine*, Vol. 20, No. 1-2, 2012, pp. 100-106, <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2011.09.004>.
- [50] K. O. Folashade, Standardization of Herbal Medicines - A Review, *International Journal of Biodiversity and Conservation*, Vol. 4, No. 3, 2012, pp. 101-112, <https://doi.org/10.5897/ijbc11.163>.
- [51] H. Wohlmuth, K. Savage, A. Dowell, P. Mouatt, Adulteration of Ginkgo biloba Products and A Simple Method to Improve Its Detection, *Phytomedicine*, Vol. 21, No. 6, 2014, pp. 912-918, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.01.010>.
- [52] Y. C. Ma, A. Mani, Y. Cai, J. Thomson, J. Ma, F. Peudru, S. Chen, M. Luo, J. Zhang, R. G. Chapman, Z. T. Shi, An Effective Identification and Quantification Method for Ginkgo biloba Flavonol Glycosides with Targeted Evaluation of Adulterated Products, *Phytomedicine*, Vol. 23, No. 4, 2016, pp. 377-387, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.003>.