



Original Article

Development of a Quantitative Method for Hydroxychavicol in the Ethyl Acetate Fraction of *Piper betle* L. Ethanol Extract Using High-Performance Liquid Chromatography

Nguyen Thi Xuan Mai¹, Le Thi Ngan¹, Nguyen Van Khanh¹,
Nguyen Thi Thanh Binh¹, Bui Thi Hao², Le Quang Thao^{1,3}, Bui Thanh Tung^{1,*}

¹VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²Vietnam University of Traditional Medicine, 2 Tran Phu, Mo Lao, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

³National Institute of Drug Quality Control, 48 Hai Ba Trung, Trang Tien, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 02 November 2024

Revised 22 November 2024; Accepted 20 December 2024

Abstract: In this study, we developed a quantitative analysis method for hydroxychavicol (HC) in the ethyl acetate fraction of the total ethanol extract of *Piper betle* using high-performance liquid chromatography. The stationary phase utilized a reversed-phase silica gel C18 column (5 μm x 4.6 mm x 250 mm), while the mobile phase consisted of acetonitrile and 0.05% orthophosphoric acid in water (30:70, v/v). The flow rate was set to 1 ml/min, with a chromatography run time of 20 minutes and a column temperature of 40 °C. Detection was carried out at a wavelength of 210 nm, corresponding to the maximum absorption wavelength of HC. The injection volume was 20 μl . The retention time for HC was about 14.03 minutes. Within the concentration range of HC from 7.68 to 276.50 $\mu\text{g/ml}$, there was a strong linear correlation between peak area and solution concentration. The method ensured specificity for HC, with high accuracy and precision, evidenced by a recovery rate from 98% to 102% and a relative standard deviation of repeatability $\leq 2\%$. The limits of detection and quantification were 0.87 $\mu\text{g/ml}$ and 2.87 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Keywords: hydroxychavicol, quantification, high-performance liquid chromatography, *Piper betle*.

* Corresponding author.

E-mail address: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4723>

Xây dựng phương pháp định lượng hợp chất hydroxychavicol trong cao phân đoạn ethyl acetat của dịch chiết toàn phần ethanol từ cây Trầu không (*Piper betle* L.) bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao

Nguyễn Thị Xuân Mai¹, Lê Thị Ngân¹, Nguyễn Văn Khanh¹, Nguyễn Thị Thanh Bình¹, Bùi Thị Hảo², Lê Quang Thảo^{1,3}, Bùi Thanh Tùng^{1,*}

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Học Viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam, 2 Trần Phú, Mỗ Lao, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, 48 Hai Bà Trưng, Tràng Tiền, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 02 tháng 11 năm 2024

Chỉnh sửa ngày 22 tháng 11 năm 2024; Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 12 năm 2024

Tóm tắt: Trong nghiên cứu này đã xây dựng được phương pháp định lượng hydroxychavicol (HC) trong cao phân đoạn ethyl acetat của dịch chiết toàn phần ethanol từ lá Trầu không bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. Pha tĩnh được sử dụng là cột silica gel pha đảo C18 (5 µm x 4,6 mm x 250 mm), pha động là hỗn hợp acetonitril : acid orthophosphoric 0,05% trong nước (30:70, v/v). Tốc độ dòng: 1 ml/phút, thời gian sắc ký: 20 phút, nhiệt độ cột: 40 °C. Bước sóng phát hiện là 210 nm, bước sóng hấp thụ cực đại của HC. Thể tích tiêm mẫu 20 µl. Thời gian lưu của HC là khoảng 14,03 phút. Trong khoảng nồng độ HC từ 7,68 tới 276,50 µg/ml, có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic và nồng độ dung dịch. Phương pháp đảm bảo tính đặc hiệu với HC, có độ đúng và độ chính xác tốt, với tỷ lệ thu hồi từ 98% - 102% và độ lệch chuẩn tương đối của độ lặp lại ≤ 2%. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng lần lượt là 0,87 µg/ml và 2,87 µg/ml.

Từ khóa: hydroxychavicol, định lượng, sắc ký lỏng hiệu năng cao, Trầu không.

1. Mở đầu

Trầu không là một cây mọc leo, thân nhẵn, được trồng tại nhiều nước khác ở Châu Á, vùng nhiệt đới như Malaysia, Indonesia, Philippin. Trầu không có vị cay nồng, mùi thơm hắc, tính ấm, vào các kinh phế, tỳ, vị, có tác dụng trừ phong thấp, chống lạnh, hạ khí, tiêu đờm, tiêu viêm, sát trùng [1]. Cây Trầu không có nhiều tác dụng dược lý quan trọng, bao gồm tác dụng kháng khuẩn, chống viêm, chống viêm khớp,

chống oxy hóa, chống ung thư,... [2]. Nhiều nghiên cứu cho thấy tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm của lá Trầu không có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật và nhiều loại vi khuẩn gram âm và gram dương cũng như các loài nấm bao gồm cả loài vi khuẩn đa kháng thuốc [3]. Trong lá Trầu không có 0,8-1,8%, có khi đến 2,4% tinh dầu tỷ trọng 0,958-1,057 thơm mùi creozot (củ dốt), vị nóng. Trong tinh dầu có hai chất phenol là betel-phenol (đồng phân với chất eugenol chavibetol C₁₀H₂O₂ và chavicol), kèm

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4723>

theo một số hợp chất phenolic khác. Lá Trà không được báo cáo là chứa dầu thơm có vị nồng gồm chủ yếu 2 betel-phenol là đồng phân của eugenol và chavicol, khoáng chất, glycosid, vitamin, acid amin thiết yếu và tanin. Nghiên cứu cho thấy hydroxychavicol (HC) là hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng nhất trong số rất nhiều thành phần hóa học tìm thấy trong cây Trà không và có tác dụng chống ung thư, được lý thần kinh, giảm đau, chống oxy hóa, bảo vệ gan, kháng khuẩn kháng nấm,... [4]. Ngoài ra, HC là một hợp chất phenolic và được xác định có hoạt tính chống ung thư hoặc chống đột biến gen [5], chống viêm và chống kết tập tiểu cầu mà không gây ảnh hưởng đến chức năng cầm máu. Cơ chế được đưa ra với tác dụng chống viêm của HC được cho là ức chế chuỗi TNF- α cytokine tiền viêm [6]. Hiện nay, trong Dược điển Việt Nam V chưa có chuyên luận về Trà không. Vì vậy, đề góp phần xây dựng tiêu chuẩn cho dược liệu cũng như cao chuẩn hoá và phát triển các nguồn nguyên liệu làm thuốc từ thiên nhiên, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xây dựng phương pháp định lượng HC trong cao dược liệu Trà không.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Mẫu nghiên cứu là cao phân đoạn ethyl acetat của dịch chiết toàn phần ethanol từ lá Trà không (*Piper betle* L.) được thu hái tại Thái Nguyên.

Chất chuẩn hydroxychavicol (độ tinh khiết 98%) được cung cấp bởi hãng Alladin (China); methanol (MeOH), acetonitrile (ACN) đạt tiêu chuẩn sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và acid orthophosphoric đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích được mua từ hãng Merck (Đức).

2.2. Thiết bị

Hệ thống HPLC Agilent 1260 Technologies (Hoa Kỳ) bơm mẫu tự động với đầu dò dẫn diod (DAD) Agilent G1315D sử dụng cột Agilent C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m), bể siêu âm Elma S100H (Đức), cân phân tích Quintix 224-1S

(Sartorius, Đức), thiết bị lọc nước GenPure UV – TOC (Thermo Scientific, Hoa Kỳ).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Quy trình bào chế cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ lá Trà không

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là lá Trà không được thu hái tại Thái Nguyên vào tháng 4 năm 2024. Mẫu được xác định tên khoa học là *Piper betle* L. bởi Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm và Khoa học Việt Nam. Mẫu nghiên cứu hiện được lưu giữ tại Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Mẫu dược liệu (1 kg) được ngâm trong ethanol 96% (3 lần mỗi lần 3 L) ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc và gộp lại, cô dịch chiết bằng cất quay dưới áp suất giảm thu được 98,5 g cao ethanol. Hòa cao ethanol với khoảng 100 mL nước cất rồi chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexan, ethyl acetat (mỗi dung môi 3 lần mỗi lần 600 mL). Cao từ dịch chiết *n*-hexan (10,9 g) ethyl acetat (60,5 g).

2.3.2. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn và mẫu thử

Dung dịch mẫu chuẩn: hoà tan chính xác khoảng 7,05 mg chất chuẩn HC trong MeOH 95% thành 5 ml dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1,41 mg/ml. Từ dung dịch chuẩn gốc, pha loãng với MeOH 95% tạo thành dãy các nồng độ chuẩn có nồng độ lần lượt là 7,68 μ g/ml; 11,52 μ g/ml; 23,04 μ g/ml; 115,21 μ g/ml; 276,50 μ g/ml.

Dung dịch mẫu thử: cân chính xác một lượng cao mẫu thử vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml MeOH 95%, siêu âm trong 15 phút, bổ sung MeOH 95% tới vạch. Lọc dịch qua màng lọc kích thước 0,22 μ m.

Mẫu trắng: dung môi MeOH 95%.

2.3.3. Phương pháp phân tích

Dựa trên nghiên cứu định lượng HC bằng phương pháp HPLC kết hợp với detector DAD đã được công bố trước [7], điều kiện sắc ký được xác định như sau: pha tĩnh là silicagel C18 (5 μ m x 4,6 mm x 250 mm); pha động ACN : acid orthophosphoric 0,05% trong nước (30:70, v/v), thể tích tiêm mẫu: 20 μ l, tốc độ dòng: 1 ml/phút,

thời gian sắc ký 20 phút, nhiệt độ cột: 40 °C. Bước sóng phát hiện là 210 nm, bước sóng hấp thụ cực đại của HC.

Thẩm định phương pháp sắc ký

Phương pháp phân tích được thẩm định theo hướng dẫn của Hội nghị quốc tế về hài hòa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho con người (ICH). Các yếu tố được thẩm định gồm: tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu - chọn lọc, tính tuyến tính và khoảng định lượng, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), độ đúng, độ lặp lại.

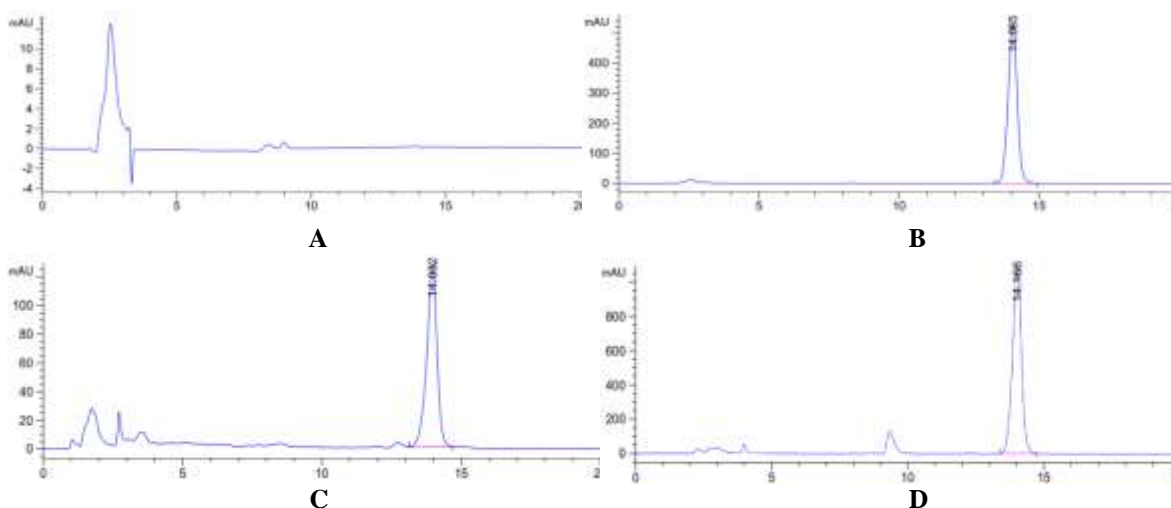
Định lượng trong mẫu cao mẫu thử

Cân chính xác một lượng 10 mg cao phân đoạn ethyl acetat vào bình định mức 10 ml, thêm 8 ml MeOH 95%, siêu âm 15 phút, bổ sung MeOH 95% đến vạch và lọc qua đầu lọc 0,22 µm. Hút 1 ml dịch lọc vào bình định mức 10 ml, thêm MeOH 95% đến vạch, rồi tiêm vào hệ thống HPLC theo điều kiện sắc ký đã được lựa chọn. Dựa vào phương trình đường chuẩn và khối lượng mẫu thử để xác định hàm lượng HC trong mẫu thử. Lặp lại thí nghiệm 3 lần, lấy kết quả trung bình.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả thẩm định phương pháp

3.1.1. Thẩm định tính tương thích hệ thống



Hình 1. Sắc ký đồ HPLC của mẫu trắng (A), mẫu chuẩn (B), mẫu thử (C) và mẫu thử thêm chuẩn (D).

Tiến hành sắc ký 6 lần mẫu chuẩn HC có nồng độ 115,2 µg/ml. Độ tương thích hệ thống sẽ được đánh giá dựa trên độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thời gian lưu (t_R) và diện tích pic (S_{pic}). Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả đánh giá tính thích hợp của hệ thống sắc ký

STT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAU.s)	Hệ số đối xứng
1	14,17	12202,5	1,02
2	14,16	12183,1	1,03
3	14,07	12305,2	1,04
4	13,99	12291,5	1,02
5	13,97	12315,0	1,02
6	13,81	12432,1	1,04
TB	14,03	12288,2	1.03
RSD (%)	0,96	0,73	0,95

Bảng 1 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu và diện tích pic đều nhỏ hơn 1% chứng tỏ phương pháp hệ thống HPLC sử dụng là phù hợp và ổn định để phân tích định lượng HC trong các mẫu nghiên cứu.

3.1.2. Tính đặc hiệu - chọn lọc

Tiến hành sắc ký mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chuẩn, mẫu thử thêm chuẩn theo điều kiện sắc ký đã lựa chọn. Kết quả sắc ký đồ các mẫu thu được như Hình 1.

Kết quả Hình 1 cho thấy tín hiệu pic của mẫu chuẩn xuất hiện tại thời gian lưu (t_R) khoảng 14,03 phút. Trên sắc ký đồ mẫu trắng không thấy xuất hiện tín hiệu pic lạ tại thời gian lưu này và trên sắc ký đồ của mẫu thử tín hiệu này tách khỏi các tín hiệu khác xuất hiện trên sắc ký đồ. Khi thêm một lượng chuẩn vào mẫu thử, kết quả chiều cao và diện tích pic của HC tăng lên so với trước khi thêm chuẩn được thể hiện trên sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn. Như vậy, có thể thấy được phương pháp phân tích có tính đặc hiệu - chọn lọc cao.

3.1.3. Tính tuyến tính và khoảng định lượng

Tiến hành sắc ký dãy các dung dịch chuẩn nồng độ 7,68; 11,52; 23,04; 115,21; 276,50 $\mu\text{g/ml}$. Xây dựng phương trình hồi quy giữa diện tích pic y (mAU.s) và nồng độ chất phân tích x ($\mu\text{g/ml}$) và xác định hệ số tương quan tuyến tính r . Kết quả thu được như trong Bảng 2 cho thấy phương pháp có sự tương quan tuyến tính chặt giữa diện tích pic và nồng độ HC trong khoảng nồng độ từ 7,68 tới 276,50 $\mu\text{g/ml}$ với hệ số tương quan r xấp xỉ bằng 1. Độ chệch tại các nồng độ khác nhau đều nằm trong khoảng cho phép dưới 15%.

Bảng 2. Kết quả phân tích hồi quy tương quan giữa diện tích pic và nồng độ HC

Nồng độ HC ($\mu\text{g/ml}$)	Diện tích pic (mAU.s)	Nồng độ HC tính lại từ đường chuẩn ($\mu\text{g/ml}$)	Độ chệch (%)
7,68	621,7	8,50	10,69
11,52	1006,6	11,93	3,52
23,04	2078,9	21,47	6,83
115,21	12664,3	115,65	0,38
276,50	30732,1	276,41	0,03
Phương trình hồi quy tuyến tính: $y = 112,39x - 333,69$; hệ số tương quan: $r = 0,9999$			

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

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) được xác định bằng phương pháp pha loãng dung dịch thử có nồng độ đã biết, ghi

lại sắc ký đồ và xác định tỷ lệ tín hiệu pic/nhiều đường nền (S/N). LOD được xác định tại nồng độ có S/N ~ 3 và LOQ được xác định tại nồng độ có S/N ~ 10 . Kết quả thực nghiệm thu được giá trị LOD và LOQ lần lượt tương ứng là 0,87 $\mu\text{g/ml}$ và 2,87 $\mu\text{g/ml}$.

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp

STT	% chuẩn thêm vào	Lượng HC (μg)	Diện tích pic (mAU.s)	Lượng tìm thấy (μg)	% thu hồi	% giá trị trung bình	RSD (%)
1	80	53,27	4658,99	53,37	100,20	100,17	0,84
2		53,27	4615,89	52,91	99,33		
3		53,27	4698,89	53,80	101,00		
4	100	59,60	4985,12	59,30	99,49	97,90	1,42
5		59,60	4850,67	57,79	96,97		
6		59,60	4865,23	57,96	97,24		
7	120	65,36	5285,59	65,29	99,89	99,74	0,60
8		65,36	5306,78	65,53	100,26		
9		65,36	5240,66	64,76	99,08		

3.1.5. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng cách thêm một lượng chất chuẩn vào mẫu thử đã biết nồng độ. Lượng mẫu chuẩn thêm vào

tương đương với 80%, 100% và 120% hàm lượng hoạt chất tương ứng trong mẫu thử. Ở mỗi mức hàm lượng thực hiện sắc ký 3 mẫu. Tính tỷ lệ thu hồi bằng tỷ lệ phần trăm lượng giữa chuẩn thêm vào và lượng chuẩn tìm thấy.

Tỷ lệ phần trăm thu hồi của phương pháp được thể hiện ở Bảng 3. Kết quả thu được cho thấy phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng với giá trị của độ thu hồi đều nằm trong khoảng 85-115% với giá trị RSD đều dưới 2%.

3.1.6. Độ lặp lại

Tiến hành xử lý mẫu thử như đã mô tả ở trên, rồi tiêm vào hệ thống sắc ký. Lặp lại thí nghiệm 6 lần, xác định RSD giữa các lần đo. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp được thể hiện ở Bảng 4. Giá trị RSD nhỏ hơn 2% (1,29%) cho kết quả định lượng có độ lặp lại tốt.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra độ lặp lại của phương pháp

STT	Khối lượng cao (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Nồng độ HC (µg/ml)
1	10,03	3080,16	30,20
2	10,00	3010,20	29,57
3	9,97	2978,97	29,30
4	10,01	3030,66	29,76
5	10,04	3082,65	30,22
6	9,98	2998,62	29,47
TB			29,75
RSD (%)			1,29

Như vậy, kết quả thẩm định cho thấy phương pháp có tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu tốt, tính tuyến tính tốt và khoảng định lượng rộng. Ngoài ra, phương pháp định lượng cũng có độ đúng và độ chính xác cao. Từ những kết quả

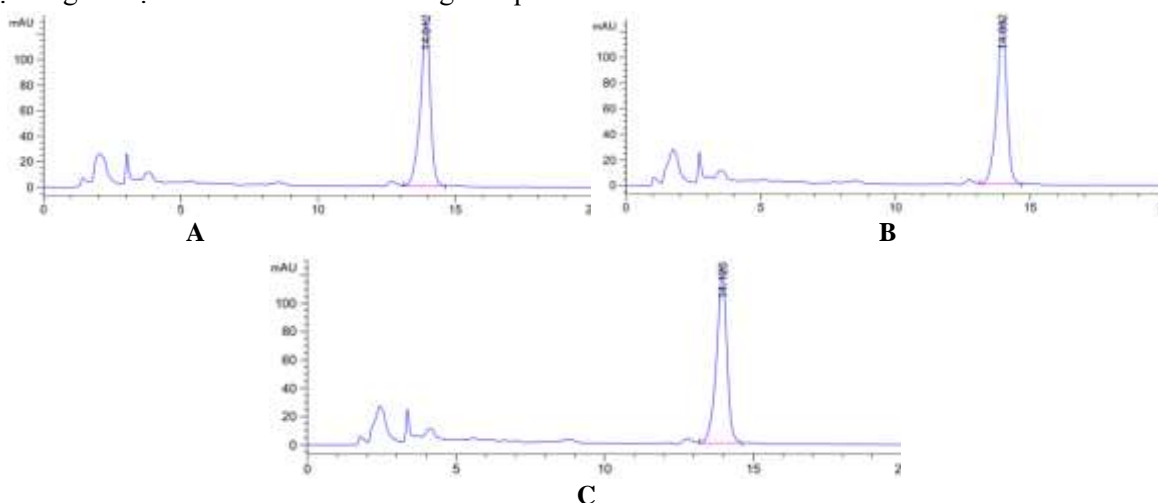
thu được, phương pháp HPLC có thể được áp dụng để phân tích hàm lượng HC trong các mẫu nghiên cứu khác nhau từ Trà không cũng như phát triển để định lượng trong các mẫu từ dược liệu khác có chứa HC với quy trình phân tích và xử lý mẫu đơn giản.

3.2. Định lượng hydroxychavicol

Áp dụng phương pháp được xây dựng để định lượng HC trong mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ dược liệu Trà không từ 3 mẻ khác nhau và sử dụng phương trình hồi quy tuyến tính $y = 112,39x - 333,69$ đã được xây dựng ở mục 3.1.3, thu được kết quả hàm lượng trung bình của mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetat là 296,58 mg/g (29,67%, w/w) như trong Bảng 5. Kết quả sắc ký đồ của các mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ 3 mẻ khác nhau thu được như Hình 2.

Bảng 5. Kết quả định lượng HC trong mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ dược liệu Trà không

Mẻ	Khối lượng cao (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Hàm lượng (mg/g)
1	10,01	3078,41	301,52
2	10,00	3001,47	294,97
3	9,98	2975,64	293,26
TB			296,58
RSD (%)			1,47



Hình 2. Sắc ký đồ HPLC của mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetate ở mẻ 1 (A), mẻ 2 (B) và mẻ 3 (C).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng dung môi ethanol để chiết xuất và dung môi ethyl acetat để làm giàu cao chiết, phù hợp với các nghiên cứu trước đó. Tỷ lệ HC trong mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetat của cao chiết toàn phần ethanol từ dược liệu lá Trầu không có hàm lượng khoảng 30% (w/w), kết quả này gần giống với hàm lượng HC trong mẫu cao chiết methanol toàn phần từ lá Trầu không (28,56%; w/w) ở trong nghiên cứu trước [8]. Một công bố khác đã chỉ ra hàm lượng HC trong cao chiết nước phân đoạn dicloromethan của Trầu không chiếm khoảng 85% (w/w) [7]. Ngoài ra, hàm lượng HC trong mẫu cao chiết nước và ethanol cũng khác nhau khoảng từ 7,22% tới 34,24% (w/w) [9]. Thamaraiyani và cộng sự đã tiến hành tinh chế cao toàn phần methanol lá Trầu không với hexan và ethyl acetat, cao thu được có hàm lượng HC 80,23% (w/w) [10]. Lam và cộng sự đã nhận thấy hàm lượng HC trong cao chiết tăng khi chiết với dung môi có độ phân cực cao theo thứ tự lần lượt là methanol > ethanol > ethyl acetat > n-hexan [11] do HC có 2 nhóm chức hydroxyl (-OH) nên có khả năng tan tốt hơn trong các dung môi phân cực. Norhisam và cộng sự cũng đã chỉ ra hiệu suất chiết HC với nước cao nhất khi so sánh với methanol và hexan [12]. Như vậy có thể thấy hàm lượng HC trong các mẫu cao chiết xuất được từ lá Trầu không trong các nghiên cứu có nhiều sự dao động, khác nhau giữa các mẫu cao nghiên cứu khi chiết với các dung môi khác nhau. Vì vậy, kết quả này có ý nghĩa quan trọng trong việc xây dựng tiêu chuẩn cơ sở về chỉ tiêu định lượng cho cao chuẩn hoá từ dược liệu Trầu không.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định lượng HC trong mẫu cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ dược liệu trầu không theo các hướng dẫn của ICH. Phương pháp xây dựng có quy trình đơn giản, đặc hiệu, chính xác, độ lặp lại và độ thu hồi cao và được ứng dụng để định lượng HC trong một số mẫu cao chiết từ Trầu không. Phương pháp này có thể áp dụng để phân tích HC trong chiết tách hoặc kiểm soát chất

lượng trong dược liệu và các mẫu cao từ lá Trầu không.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG.23.70 “Nghiên cứu bào chế và đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh Gout cấp trên thực nghiệm của viên nang cứng chứa cao định lượng lá cây Trầu không (*Piper betle* L., Piperaceae)” của Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

- [1] R. K. Gupta, P. Guha, P. P. Srivastav, Phytochemical and Biological Studies of Betel Leaf (*Piper betle* L.): Review on Paradigm and Its Potential Benefits in Human Health, *Acta Ecologica Sinica*, Vol. 43, No. 5, 2023, pp 721-732.
- [2] M. Madhumita, P. Guha, A. Nag, Bioactives of Betel Leaf (*Piper betle* L.): A Comprehensive Review on Extraction, Isolation, Characterization, and Biological Activity, *Phytotherapy Research*, Vol. 34, No. 10, 2020, pp. 2609-2627.
- [3] B. Jayalakshmi, K. Raveesha, M. Murali, K. Amruthesh, Phytochemical, Antibacterial and Antioxidant Studies on Leaf Extracts of *Piper betle* L., *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 7, No. 10, 2015, pp. 23-29.
- [4] I. Ali, F. G. Khan, K. A. Suri, B. D. Gupta, N. K. Satti, P. Dutt et al., In Vitro Antifungal Activity of Hydroxychavicol Isolated from *Piper betle* L., *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, Vol. 9, No. 7, 2010, pp. 1-9.
- [5] D. Singh, S. Narayanamoorthy, S. Gamre, A. G. Majumdar, M. Goswami, U. Gami et al., Hydroxychavicol, a Key Ingredient of *Piper betle* Induces Bacterial Cell Death by DNA Damage and Inhibition of Cell Division, *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 120, 2018, pp 62-71.
- [6] J. Seo, U. Lee, S. Seo, A. E. Wibowo, O. B. Pongtuluran, K. Lee et al., Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of Methanol Extract of *Piper betle* Linn. (*Piper betle* L.) Leaves and Stems by Inhibiting NF- κ B/MAPK/Nrf2 Signaling Pathways in RAW 264.7 Macrophages, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 155, No., 2022, pp 113734.
- [7] P. T. T. Thuy, N. D. Nga, The HPLC Method Development for Determination of Hydroxychavicol in Betel (*Piper betle* L. Piperaceae) Extract, *Journal of Science and Technology*, Nguyen Tat Thanh University, No. 16, 2022, pp. 45-53.

- [8] N. Maity, N. K. Nema, M. K. Sellamuthu, B. K. Sarkar, P. K. Mukherjee, Simultaneous Estimation of Hydroxychavicol and Chlorogenic Acid from *Piper betel* L. Through RP-HPLC, *Nat Prod Res*, Vol. 26, No. 20, 2012, pp. 1939-1941.
- [9] N. N. Mohamad, F. Abdalrahim, Z. Ismail, Eds. A Validated Reverse Phase HPLC for Determination of Hydroxychavicol and Chavibetol in *Piper Betle* Extracts with Different Extraction Times and Locations. *Proceedings of the The Open Conference Proceedings Journal*, 2013.
- [10] I. Thamaraiyani, M. Kulandhaivel, Purification of Hydroxychavicol from *Piper betle* Linn and Evaluation of Antimicrobial Activity against Some Food Poison Causing Bacteria, *Journal of Pure and Applied Microbiology*, Vol. 11, No. 4, 2017, pp 1883-1889.
- [11] L. T. T. Nguyen, T. T. Nguyen, H. N. Nguyen, Q. T. P. Bui, Simultaneous Determination of Active Compounds in *Piper betle* Linn. Leaf Extract and Effect of Extracting Solvents on Bioactivity *Engineering Reports*, Vol. 2, No. 10, 2020, pp. e12246.
- [12] N. Zamakshshari, I. A. Ahmed, M. N. Nasharuddin, N. M. Hashim, M. R. Mustafa, R. Othman et al., Effect of Extraction Procedure on the Yield and Biological Activities of Hydroxychavicol from *Piper betle* L. Leaves, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, Vol. 24, 2021, pp. 100320.