KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU SUẤT CHIẾT BERBERIN CLORID TỪ BÀI THUỐC HOÀNG LIÊN GIẢI ĐỘC THANG

Chu Anh Tuấn[1], Nguyễn Trọng Điệp[2], Phạm Đức Thịnh[2]
Trần Thị Phương Thảo[2], Đoàn Chí Thanh[1], Lương Quang Anh[1,2]*

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết berberin clorid (BCR) từ bài thuốc Hoàng liên giải độc thang (HLGĐT), làm cơ sở xây dựng quy trình bào chế cao lỏng. ***Phương pháp nghiên cứu:*** Nghiên cứu thực nghiệm *in vitro,* ảnh hưởng của phương pháp chiết, kích thước tiểu phân dược liệu, dung môi, tỷ lệ dược liệu/dung môi (DL/DM), thời gian và số lần chiết được khảo sát. ***Kết quả:*** Hàm lượng BCR trong bài thuốc là 23,90 ± 0,40 mg/g. Hiệu suất chiết bằng siêu âm ở 60°C và hồi lưu lần lượt là 41,61% và 39,09%; hồi lưu được chọn do phù hợp hơn khi nâng quy mô. Bột nửa thô làm tăng hiệu suất từ 24,80% lên 39,09%. Acid hóa ethanol 90% bằng HCl 1% làm tăng hiệu suất từ 39,09% lên 82,33%; ethanol 70% chứa HCl 1% cho hiệu suất cao nhất (88,49%). Tỷ lệ DL/DM 1:10 đạt 88,49%; tăng đến 1:20 đạt 91,17%. Hiệu suất ở 30 và 60 phút lần lượt là 88,49% và 89,26%. Lần chiết thứ nhất đạt 88,31%; lần thứ hai và thứ ba thu thêm 4,55% và 2,13%. ***Kết luận:*** Điều kiện chiết phù hợp ở quy mô phòng thí nghiệm gồm bột nửa thô, chiết hồi lưu một lần trong 30 phút bằng ethanol 70% chứa HCl 1%, tỷ lệ DL/DM là 1g/10mL.

Từ khóa: Hoàng liên giải độc thang; Berberin clorid; Ethanol 70%; Chiết hồi lưu.

FACTORS AFFECTING BERBERINE CHLORIDE EXTRACTION EFFICIENCY FROM HOANG LIEN GIAI DOC THANG REMEDY

Abstract

Objectives: To investigate the effects of selected process variables on the extraction yield of berberine chloride from Hoang lien giai doc thang remedy,

[1]Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác, Học viện Quân y
[2]Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y
***Tác giả liên hệ: Lương Quang Anh (luongquanganh@vmmu.edu.vn)**
Ngày nhận bài: 30/7/2026
Ngày được chấp nhận đăng: 03/9/2026
http://doi.org/10.56535/jmpm.v51i10.2324

providing a basis for developing a liquid extract preparation process. ***Methods:*** This was an *in vitro* experimental study design. The influences of extraction method, herbal material particle size, solvent, herbal material-to-solvent ratio, extraction time, and number of extractions were investigated. ***Results:*** The berberine chloride content of the herbal formula was 23.90 ± 0.40 mg/g. The yields obtained by ultrasound-assisted extraction at 60°C and reflux extraction were 41.61% and 39.09%, respectively; reflux extraction was selected because of its greater suitability for scale-up. Moderately coarse powder increased the yield from 24.80% to 39.09%. Acidifying 90% ethanol with 1% HCl increased the yield from 39.09% to 82.33%; 70% ethanol containing 1% HCl produced the highest yield (88.49%). A herbal material-to-solvent ratio of 1:10 yielded 88.49%, whereas 1:20 yielded 91.17%. The yields after 30 and 60 minutes were 88.49% and 89.26%, respectively. The first extraction yielded 88.31%; the second and third yielded an additional 4.55% and 2.13%. ***Conclusion:*** The selected laboratory-scale conditions were a single 30-min reflux extraction of moderately coarse herbal powder with 70% ethanol containing 1% HCl at a herbal material-to-solvent ratio of 1g/10mL.

Keywords: Hoang lien giai doc thang; Berberine chloride; 70% ethanol; Reflux extraction.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoàng liên giải độc thang là bài thuốc cổ phương gồm Hoàng liên, Hoàng bá, Hoàng cầm và Chi tử, có công năng thanh nhiệt, tả hỏa, giải độc theo y học cổ truyền. Các nghiên cứu hiện đại cho thấy bài thuốc có tác dụng kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hóa, điều hòa miễn dịch và cải thiện vi tuần hoàn. HLGĐT cũng được sử dụng trong hỗ trợ điều trị bỏng nhằm nâng đỡ cơ thể và thúc đẩy liền vết thương. Thành phần hóa học của bài thuốc chủ yếu gồm alcaloid, flavonoid và glycosid iridoid; trong đó, berberin, baicalin và geniposid là các hợp chất đặc trưng thường được lựa chọn trong nghiên cứu hóa học, tác dụng sinh học và kiểm soát chất lượng [1].

Bài thuốc HLGĐT thường được sử dụng dưới dạng thuốc thang sắc uống, nhưng còn hạn chế về tính thuận tiện, độ ổn định, khả năng chuẩn hóa liều lượng và kiểm soát chất lượng giữa các mẻ. Do đó, bào chế cao chuẩn hóa làm nguyên liệu sản xuất các dạng thuốc hiện đại, như viên nang cứng, là hướng phát triển cần thiết. Trong quá trình này, chiết xuất là công đoạn then chốt, ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất thu hồi hoạt chất và chất lượng cao bán thành phẩm [2]. BCR là chất chỉ dấu đặc trưng cho nhóm alcaloid của bài thuốc HLGĐT, phù hợp để đánh giá hiệu suất chiết [1]. Nghiên cứu được thực hiện nhằm: *Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố quy trình đến hiệu suất chiết BCR, làm cơ sở lựa chọn điều kiện bào chế cao lỏng phù hợp.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Bài thuốc HLGĐT gồm Hoàng liên, Hoàng bá, Hoàng cầm và Chi tử theo tỷ lệ khối lượng 3:2:2:3. Dược liệu đạt yêu cầu Dược điển Việt Nam V.

Hóa chất, dung môi: BCR chuẩn (98%) của Chemfaces (Trung Quốc), acetonitril đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography - HPLC), nước tinh khiết, ethanol 96% và một số hóa chất thí nghiệm đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V.

Thiết bị: Hệ thống HPLC Waters-2469 (Hoa Kỳ), máy quang phổ UV-Vis Jasco (Nhật Bản), cân kỹ thuật và cân phân tích Mettler Toledo (Thụy Sĩ), máy đo độ ẩm tự động Adam (Anh), bộ dụng cụ chiết hồi lưu quy mô phòng thí nghiệm (Trung Quốc).

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu thực nghiệm *in vitro.*

** Khảo sát thông số quy trình chiết xuất:*

Quy trình chiết xuất: Các loại dược liệu được sấy khô, nghiền và rây để thu hai mức kích thước là bột thô và bột nửa thô theo quy định của Dược điển Việt Nam V. Cân 10,0g hỗn hợp dược liệu theo tỷ lệ của bài thuốc vào bình chiết, thêm dung môi theo tỷ lệ quy định và tiến hành chiết ở điều kiện khảo sát. Sau chiết, để nguội, ly tâm thu dịch chiết, pha loãng thích hợp và lọc qua màng 0,45µm trước khi phân tích HPLC.

Khảo sát các yếu tố: Phương pháp chiết hồi lưu và siêu âm ở 60°C; kích thước dược liệu; dung môi chiết methanol, ethanol và nước, có hoặc không acid hóa bằng HCl 1% (v/v); nồng độ dung môi; tỷ lệ DL/DM (1:5, 1:10, 1:15 và 1:20); thời gian chiết (15, 30, 60 và 90 phút); số lần chiết (1, 2 và 3 lần). Tiêu chí đánh giá là hiệu suất chiết BCR.

** Định lượng BCR bằng HPLC:*

Phương pháp định lượng đã được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [4], đạt các tiêu chí yêu cầu, có thể áp dụng để định lượng BCR trong bài thuốc HLGĐT.

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 5mg BCR chuẩn, hòa tan trong methanol để được các dung dịch chuẩn có nồng độ 1, 25, 50, 70 và 100 µg/mL.

Mẫu thử: Cân 10,0g bài thuốc đã nghiền nhỏ và rây qua rây 0,355mm vào bình nón 500mL, thêm 100mL methanol và 1mL dung dịch acid HCl. Chiết hồi lưu ở nhiệt độ sôi của dung môi trong 3 giờ. Lấy khoảng 10mL dịch chiết vào ống ly tâm 15mL, ly tâm 3.000 vòng/phút trong 10 phút. Hút chính xác 0,1mL dịch trong vào bình định mức 10mL, thêm methanol vừa đủ đến vạch, lọc qua màng 0,45µm và phân tích HPLC.

Điều kiện sắc ký: Cột C18 (5µm; 4,6 × 250mm); detector UV/PDA; bước sóng phát hiện 346nm; pha động acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1% (30:70, v/v); tốc độ dòng 1,0 mL/phút; thể tích tiêm 10µL; phân tích ở nhiệt độ phòng.

Tiến hành sắc ký: Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử vào hệ thống sắc ký và ghi diện tích pic của mỗi dung dịch. Căn cứ vào nồng độ và diện tích pic của dung dịch chuẩn để tính hàm lượng (mg/g) của BCR trong mẫu thử.

Hiệu suất chiết là tỷ lệ (%) lượng BCR thu được ở điều kiện khảo sát so với lượng BCR trong bài thuốc.

** Xử lý số liệu:* Bằng Microsoft Excel. Kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn ($\overline{X}$ ± SD).

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm trên dược liệu, không thực hiện trên người hoặc động vật. Số liệu nghiên cứu là một phần của đề tài cấp Bộ Quốc phòng, mã số 2024.75.48 mà các tác giả đều là thành viên của nhóm nghiên cứu. Nghiên cứu này tuân thủ các quy định hiện hành của Học viện Quân y. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Ảnh hưởng của phương pháp chiết và kích thước tiểu phân dược liệu

Kết quả định lượng BCR trong bài thuốc là 23,90 ± 0,40 mg/g. Giá trị này được dùng làm căn cứ tính hiệu suất thu hồi ở các điều kiện khảo sát. Tiến hành chiết theo quy trình đã mô tả, trong đó dung môi là ethanol 90%, tỷ lệ DL/DM là 1:10, thời gian chiết là 30 phút. So sánh chiết siêu âm và hồi lưu; bột thô và nửa thô. Kết quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của phương pháp chiết và kích thước tiểu phân dược liệu đến hiệu suất chiết BCR (n = 3).

Yếu tố	Mức khảo sát	Hàm lượng BCR (mg/g)	Hiệu suất chiết BCR (%)
Hồi lưu ở nhiệt độ sôi	Dạng bột thô	5,93 ± 0,04	24,80 ± 0,15
	Dạng bột nửa thô	9,34 ± 0,10	39,09 ± 0,41
Siêu âm ở 60°C	Dạng bột nửa thô	9,95 ± 0,15	41,61 ± 0,61

Kết quả khảo sát cho thấy phương pháp chiết siêu âm cho hiệu suất cao hơn hồi lưu, tuy nhiên mức độ không nhiều. Vì vậy, chiết hồi lưu được lựa chọn do phù hợp hơn với thiết bị dự kiến sử dụng khi nâng quy mô. Trong điều kiện hồi lưu, giảm kích thước dược liệu từ bột thô xuống bột nửa thô làm tăng hiệu suất chiết từ 24,80% lên 39,09%, có thể do tăng diện tích tiếp xúc giữa dược liệu và dung môi, qua đó cải thiện quá trình chuyển khối. Do đó, chiết hồi lưu với bột nửa thô được lựa chọn cho khảo sát tiếp theo.

2. Ảnh hưởng của loại dung môi

Chiết hồi lưu với bột nửa thô với tỷ lệ DL/DM 1:10 trong 30 phút, chỉ thay đổi về loại dung môi sử dụng và việc bổ sung bằng HCl 1%. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

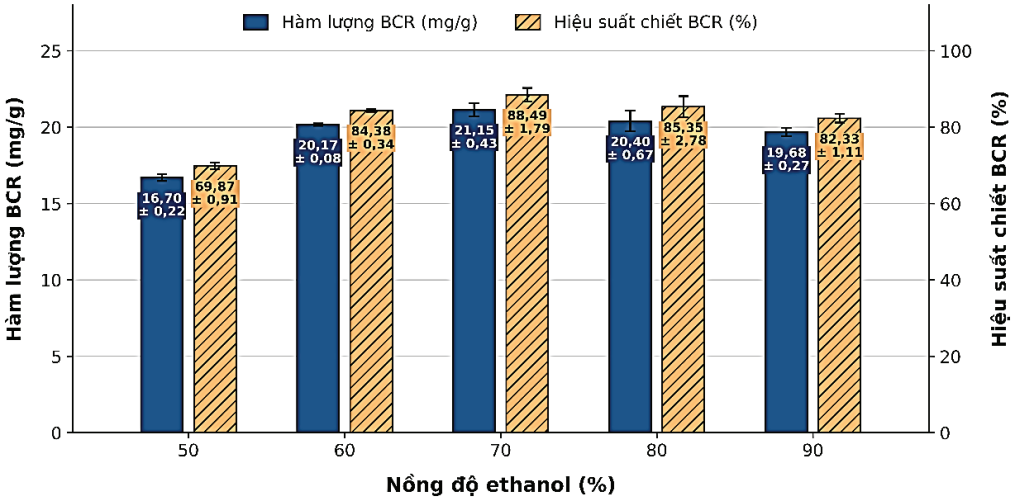
Bảng 2. Ảnh hưởng của loại dung môi và acid hóa đến hàm lượng và hiệu suất chiết BCR (n = 3).

Dung môi chiết	Bổ sung HCl 1%	Hàm lượng BCR (mg/g)	Hiệu suất chiết BCR (%)
Methanol	Có	17,25 ± 0,06	72,19 ± 0,27
	Không	15,51 ± 0,07	64,88 ± 0,29
Ethanol 90%	Có	19,68 ± 0,27	82,33 ± 1,11
	Không	9,34 ± 0,10	39,09 ± 0,41
Nước	Có	5,25 ± 0,15	21,97 ± 0,62
	Không	0,90 ± 0,04	3,78 ± 0,16

Loại dung môi và việc bổ sung HCl ảnh hưởng rõ đến hiệu suất thu hồi BCR. Bổ sung HCl làm tăng hiệu suất trong cả ba loại dung môi, rõ nhất với ethanol 90%. Nước cho hiệu suất chiết BCR thấp nhất. Do vậy, ethanol acid hóa được lựa chọn để khảo sát tiếp vì cho hiệu suất cao, an toàn hơn methanol và thuận lợi cho thu hồi dung môi khi phát triển chế phẩm.

3. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol chứa acid HCl 1%

Tiến hành chiết hồi lưu trong cùng điều kiện như khảo sát trước, sử dụng nồng độ ethanol khác nhau có chứa HCl 1%. Kết quả được trình bày trong hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol chứa HCl 1% đến hàm lượng và hiệu suất chiết BCR (n = 3).

Kết quả ở hình 1 cho thấy khi tăng nồng độ ethanol (chứa HCl 1%) từ 50% lên 70%, hàm lượng BCR tăng từ 16,70 ± 0,22 mg/g lên 21,15 ± 0,43 mg/g, tương ứng hiệu suất chiết tăng từ 69,87 ± 0,91% lên 88,49 ± 1,79%. Khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol lên 80 - 90%, cả hai chỉ tiêu đều giảm. Như vậy, ethanol 70% chứa HCl 1% cho hàm lượng và hiệu suất chiết BCR cao nhất trong phạm vi khảo sát, nên được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

4. Ảnh hưởng của tỷ lệ DL/DM, thời gian và số lần chiết

Chiết hồi lưu với ethanol 70% chứa HCl 1%, khảo sát lần lượt với tỷ lệ DL/DM, thời gian chiết và số lần chiết; thông số được lựa chọn ở khảo sát trước được cố định cho khảo sát tiếp theo. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ DL/DM, thời gian và số lần chiết đến hàm lượng và hiệu suất chiết BCR (n = 3).

Yếu tố	Mức yếu tố	Hàm lượng BCR (mg/g)	Hiệu suất chiết BCR (%)
Tỷ lệ DL/DM	1:5	16,63 ± 0,20	69,58 ± 0,85
	1:10	21,15 ± 0,43	88,49 ± 1,79
	1:15	21,45 ± 0,02	89,75 ± 0,08
	1:20	21,79 ± 0,50	91,17 ± 2,09
Thời gian chiết	15 phút	18,93 ± 0,43	79,19 ± 1,79
	30 phút	21,15 ± 0,43	88,49 ± 1,79
	60 phút	21,33 ± 0,57	89,26 ± 2,39
	90 phút	20,87 ± 0,40	87,31 ± 1,66
Số lần chiết	Dịch chiết lần 1	21,11 ± 0,60	88,31 ± 2,50
	Dịch chiết lần 2	1,09 ± 0,08	4,55 ± 0,33
	Dịch chiết lần 3	0,51 ± 0,03	2,13 ± 0,14

Kết quả ở bảng 3 cho thấy khi tăng tỷ lệ DL/DM từ 1:5 lên 1:10 làm tăng rõ hiệu suất chiết, nhưng khi tăng tiếp đến 1:15 và 1:20 chỉ cải thiện thêm ở mức nhỏ. Vì vậy, tỷ lệ 1:10 được lựa chọn để khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết. Khi tăng thời gian chiết từ 15 - 90 phút, hiệu suất tăng mạnh trong 30 phút đầu, gần đạt trạng thái ổn định ở 30 - 60 phút và giảm nhẹ ở 90 phút. Cố định thời gian chiết trong 30 phút, khảo sát số lần chiết, kết quả cho thấy ở lần chiết thứ nhất thu hồi 88,31%, nhưng ở lần thứ hai và thứ ba chỉ thu thêm lần lượt 4,55% và 2,13%. Như vậy, điều kiện thích hợp để chiết xuất bài thuốc HLGĐT dựa trên chất đánh dấu BCR là: Nguyên liệu dạng bột nửa thô, chiết hồi lưu với ethanol 70% chứa HCl 1% ở nhiệt độ sôi của dung môi, tỷ lệ DL/DM là 1g/10mL, chiết một lần trong 30 phút.

BÀN LUẬN

Bài thuốc HLGĐT gồm Hoàng liên, Hoàng bá, Hoàng cầm và Chi tử; các nhóm hợp chất đặc trưng là alcaloid, flavonoid và glycosid iridoid, với các chất đại diện gồm berberin, baicalin và geniposid [1]. BCR được chọn làm chất đánh dấu do berberin là alcaloid đặc trưng của Hoàng liên và Hoàng bá. Theo Dược điển Việt Nam V, hàm lượng BCR tối thiểu là 3,5% ở Hoàng liên, 2,5% ở loài *P. chinense* và 0,33% ở loài *P. amurense* [3]. Quy đổi theo tỷ lệ bài thuốc, hàm lượng tối thiểu lý thuyết là 15,50 mg/g khi dùng Hoàng bá loài *P. chinense* hoặc 11,16 mg/g khi dùng loài *P. amurense*, tính theo dược liệu khô kiệt. Hàm lượng BCR xác định trong bài thuốc (23,90 ± 0,40 mg/g) cao hơn các mức tối thiểu lý thuyết này.

Để có căn cứ xây dựng quy trình bào chế cao lỏng từ bài thuốc, nghiên cứu này đã khảo sát ảnh hưởng của kích thước tiểu phân dược liệu, phương pháp chiết và các thông số cơ bản nhất của một quy trình chiết xuất. Siêu âm ở 60°C cho hiệu suất chiết BCR là 41,61%, cao hơn so với hồi lưu (39,09%), nhưng không khác biệt lớn. Hồi lưu vẫn được lựa chọn do phù hợp với hệ thống thiết bị khi nâng quy mô; siêu âm cũng được ghi nhận có hiệu quả đối với chiết alcaloid từ Hoàng liên [5]. Giảm kích thước nguyên liệu làm tăng diện tích tiếp xúc và rút ngắn quãng đường khuếch tán nội hạt [2], do đó bột nửa thô làm tăng hiệu suất từ 24,80% lên 39,09% so với bột thô. Tuy nhiên, nghiền quá mịn có thể gây đóng bánh và khó lọc; vì vậy, bột nửa thô là phù hợp với chiết xuất BCR từ bài thuốc HLGĐT.

Dung môi là một trong những yếu tố quan trọng của một quy trình chiết xuất, do khả năng hòa tan phụ thuộc vào đặc tính của chất mục tiêu và dung môi. Với bài thuốc HLGĐT, loại dung môi và việc acid hóa làm thay đổi hiệu suất chiết BCR. Khi không acid hóa, methanol cho hiệu suất cao hơn ethanol 90% (64,88% so với 39,09%); sau khi bổ sung HCl 1%, ethanol 90% lại cho hiệu suất cao hơn methanol (82,33% so với 72,19%). Với cả 3 loại dung môi khảo sát, acid hóa đã cải thiện rõ rệt hiệu suất chiết BCR.

Ethanol 70% chứa HCl 1% cho hiệu suất cao nhất trong phạm vi khảo sát (88,49%), phù hợp với vai trò của hệ ethanol - nước trong thấm ướt, trương nở dược liệu và hòa tan hoạt chất [2]. Teng và Choi xác định điều kiện tối ưu cho berberin từ Hoàng liên là ethanol 64,75%, tỷ lệ DL/DM là 1/32,40 mL/g, 80°C và 5,61 giờ, nhưng không acid hóa dung môi [6]. Trong chiết dung môi tăng tốc, Chen và CS ghi nhận ethanol 60%

chứa HCl 0,5% cho hiệu suất chiết cao nhất đối với ba alcaloid; tuy nhiên, ethanol 80% chứa HCl 0,5% được chọn để hạn chế tắc hệ thống [7]. Khác biệt giữa các nghiên cứu có thể do đối tượng, phương pháp chiết và điều kiện acid hóa. Vì vậy, ethanol 70% chứa HCl 1% chỉ được xem là điều kiện phù hợp trong phạm vi khảo sát đối với HLGĐT.

Tỷ lệ DL/DM 1g/10mL, chiết hồi lưu một lần trong 30 phút được lựa chọn trên cơ sở cân bằng giữa hiệu suất và yếu tố kỹ thuật - kinh tế. Tăng tỷ lệ từ 1:10 lên 1:20 chỉ làm tăng hiệu suất từ 88,49% lên 91,17%; kéo dài thời gian đến 60 phút chỉ tăng hiệu suất lên 89,26%, còn lần chiết thứ hai và thứ ba thu thêm 4,55% và 2,13%. Việc hạn chế dung môi, thời gian và số lần chiết giúp giảm lượng dung môi cô đặc, tiết kiệm năng lượng và giảm nguy cơ phân hủy hoạt chất khi tiếp xúc với nhiệt. Tuy nhiên, BCR chỉ đại diện cho nhóm alcaloid có nguồn gốc chủ yếu từ Hoàng liên và Hoàng bá, chưa phản ánh đầy đủ khả năng chiết xuất các nhóm hoạt chất khác trong bài thuốc. Do đó, cần đánh giá thêm hiệu suất chiết baicalin từ Hoàng cầm và geniposid từ Chi tử để xác nhận tính phù hợp của điều kiện đã lựa chọn, đồng thời điều chỉnh các thông số nếu cần khi tiến hành nâng cấp quy mô chiết xuất.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến hiệu suất chiết BCR từ bài thuốc HLGĐT. Điều kiện chiết phù hợp trong phạm vi khảo sát theo BCR là sử dụng nguyên liệu dạng bột nửa thô, chiết hồi lưu một lần trong 30 phút bằng ethanol 70% chứa HCl 1%, với tỷ lệ DL/DM 1 g/10 mL.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả trân trọng gửi lời cảm ơn Học viện Quân y và Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Qi Y, Zhang Q, Zhu H. Huang-Lian Jie-Du decoction: a review on phytochemical, pharmacological and pharmacokinetic investigations. Chin Med. 2019;14:57. doi:10.1186/s13020-019-0277-2

2. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chin Med. 2018;13:20. doi:10.1186/s13020-018-0177-x

3. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. Tập 2. Nhà xuất bản Y học. 2017.

4. International Council for Harmonisation. ICH harmonised guideline Q2(R2): validation of analytical procedures. Adopted November 1, 2023.

5. Teng H, Choi YH. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive alkaloid compounds from Rhizoma Coptidis (Coptis chinensis Franch.) using response surface methodology. Food Chem. 2014;142:299-305. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.136

6. Teng H, Choi YH. Optimization of extraction of bioactive alkaloids and antioxidants from rhizome Coptidis (Coptis chinensis Franch.) using response surface methodology. Food Sci Biotechnol. 2012;21:799-806. doi:10.1007/s10068-012-0103-4

7. Chen JH, Wang FM, Liu J, et al. Analysis of alkaloids in Coptis chinensis Franch by accelerated solvent extraction combined with ultra-performance liquid chromatography with photodiode array and tandem mass spectrometry detections. Anal Chim Acta. 2008;613(2):184-95. doi:10.1016/j.aca.2008.02.060