

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Đinh Thị Huyền Trang**

**NGHIÊN CỨU PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN, CẤU TRÚC  
HÓA HỌC CỦA CÁC HỢP CHẤT TỪ LOÀI DỨA ĐẠI  
(*Pandanus tonkinensis* MART.EX B.STONE)  
BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP HÓA LÝ HIỆN ĐẠI**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA PHÂN TÍCH**

**Mã số: 9 44 01 18**

**Hà Nội - 2024**

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn 1: PGS.TS. Dương Hồng Anh - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
2. Người hướng dẫn 2: GS.TS. Ngô Quốc Anh – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 1: PGS.TS. Vũ Đức Lợi

Phản biện 2: PGS.TS. Mạc Đình Hùng

Phản biện 3: PGS.TS. Vũ Kim Thư

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi 09 giờ 00, ngày 28 tháng 12 năm 2023

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

## **DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Dinh Thi Huyen Trang**, Pham Hung Viet, Duong Hong Anh, Bui Huu Tai, Ngo Quoc Anh, Nguyen Xuan Nhiem and Phan Van Kiem, 2022, Lignans and Other Compounds from the Roots of *Pandanus tonkinensis* with Their Lipid Peroxidation Inhibitory Activity, *Natural Product Communications*, 17(4), pp. 1-5.
2. **Dinh Thi Huyen Trang**, Duong Hong Anh, Quoc Anh Ngo, Pham Hung Viet, Bui Huu Tai, Nguyen Xuan Nhiem & Phan Van Kiem, 2023, Pandatonkinosides A and B: two new phenolic glycosides from the roots of *Pandanus tonkinensis* and their nitric oxide production inhibitory activities, *Natural Product Research*, 37(19), pp. 3253-3260.
3. **Dinh Thi Huyen Trang**, Pham Thu Trang, Do Minh Phuong, Duong Hong Anh, Ngo Quoc Anh, Phan Van Kiem, and Pham Hung Viet, 2023, The chemical composition from the fruits of *Pandanus tonkinensis* and their inhibitory NO production and lipid peroxidative inhibitory activities, *Vietnam Journal of Chemistry*, 61(special issue), pp. 1-7.
4. **Đinh Thị Huyền Trang**, Bùi Văn Trung, Ngô Quốc Anh, Dương Hồng Anh và Phạm Hùng Việt, 2023, Định lượng các chất đánh dấu pinoresinol 4'-O-beta-D glucopyranoside và vladinol F trong dược liệu quả dứa dại Bắc bộ (*Pandanus tonkinensis*) bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao, *Tạp chí Khoa học ĐHQG Hà Nội*, 39(2), tr. 1-9.

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của luận án

Là một trong những quốc gia nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, Việt Nam có hệ thực vật đa dạng và phong phú, cây làm thuốc chiếm khoảng 30%. Nhiều công trình nghiên cứu về cây thuốc của hệ thực vật Việt Nam mang lại nhiều đóng góp to lớn cho việc bảo vệ sức khỏe con người. Sử dụng thực vật chữa bệnh cho con người thường ít gây tác dụng phụ hơn so với thuốc có nguồn gốc tổng hợp, do đó với tình trạng ngày càng gia tăng về bệnh tật như tim mạch, ung thư, gan... thì việc nghiên cứu về các loài thực vật để làm thuốc là vấn đề mang tính khoa học và thời sự [1].

Dứa dại (Pandanaceae) là một họ thực vật có hoa có nguồn gốc từ vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, phân bố từ Tây Phi đến Thái Bình Dương. Trong đó *Pandanus* là chi lớn và quan trọng nhất với khoảng 600 loài, có thể dùng làm nguồn thực phẩm và làm thuốc. Ở Việt Nam, họ Dứa dại (Pandanaceae) gồm 23 loài thuộc 2 chi là *Freycinetia* (3 loài) và *Pandanus* (20 loài). Theo các tài liệu y học cổ truyền, có 9 loài thuộc chi *Pandanus* được dùng làm thuốc ở Việt Nam, chủ yếu có tác dụng với các bệnh về thận (lợi tiểu, chữa sỏi thận, sỏi mật, viêm đường tiết niệu,...), các bệnh về gan (viêm gan, xơ gan cổ trướng), thanh nhiệt, hạ sốt, bệnh ngoài da,...[2], [3].

Loài dứa dại *Pandanus tonkinensis* Mart. ex B. Stone còn gọi là dứa Bắc bộ có mặt từ vùng núi trung du Bắc bộ tới miền Trung, Tây Nguyên, Bình Thuận, Long An là một trong 9 loài nói trên mà đọt non, lá, rễ và quả có thể dùng làm thuốc [2]. Trong chương trình Khoa học công nghệ phát triển bền vững vùng Tây bắc, đã công bố kết quả điều tra, nghiên cứu về bài thuốc điều trị bệnh gan mật, trong đó dịch chiết nước của bài thuốc với hai vị Trứng quốc (*Stixis suaveolens*) và Dứa dại (*Pandanus tonkinensis*) đã được chứng minh là có hiệu quả bảo vệ gan tốt, cao hơn so với sylimarin [4]. Hiện nay chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và tác dụng dược lý của loài dứa dại *Pandanus tonkinensis* [5]. Để có được những bằng chứng

khoa học về thành phần, hoạt tính sinh học cũng như kiểm soát chất lượng dược liệu và các sản phẩm bào chế theo hướng bảo vệ gan, luận án với tên đề tài: “Nghiên cứu phân tích thành phần, cấu trúc hóa học của các hợp chất từ loài Dừa dại (*Pandanus tonkinensis* Mart.ex B.Stone) bằng các phương pháp hóa lý hiện đại” đã được đề xuất và thực hiện.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án:**

- Phân tích được thành phần, cấu trúc hóa học và hoạt tính định hướng bảo vệ gan của các hợp chất từ loài *Pandanus tonkinensis*.

- Xác định được chất đánh dấu từ loài *Pandanus tonkinensis* theo hướng bảo vệ gan và xây dựng được quy trình phân tích định lượng các chất đánh dấu trong dược liệu phục vụ việc kiểm soát chất lượng và phát triển chế phẩm từ dược liệu này.

## **3. Nội dung nghiên cứu luận án bao gồm:**

- Sử dụng các kỹ thuật tách chiết, phân lập, các phương pháp hóa lý sinh hiện đại để phân tích thành phần, cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất được phân lập từ loài *Pandanus tonkinensis*.

- Lựa chọn chất đánh dấu cho loài *Pandanus tonkinensis* theo hướng bảo vệ gan; chiết xuất, tinh chế, phân tích kiểm tra độ tinh khiết của chất đánh dấu từ dược liệu này.

- Xây dựng và thẩm định quy trình phân tích định lượng các chất đánh dấu trong dược liệu *Pandanus tonkinensis*. Áp dụng quy trình, phân tích hàm lượng chất đánh dấu trong dược liệu thu hái tại các địa phương.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Chương 1 gồm 21 trang, trình bày tổng quan tài liệu về chi *Pandanus*, các công trình nghiên cứu đã công bố về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ chi *Pandanus*. Giới thiệu về loài *Pandanus tonkinensis* Martelli ex B.C. Stone. Tổng quan về các phương pháp hóa lý để chiết tách, phân lập, xác định cấu trúc các chất tinh khiết từ dược liệu, đánh giá hoạt tính sinh học theo hướng bảo vệ gan và giới thiệu về chất đánh dấu hóa học cho dược liệu.

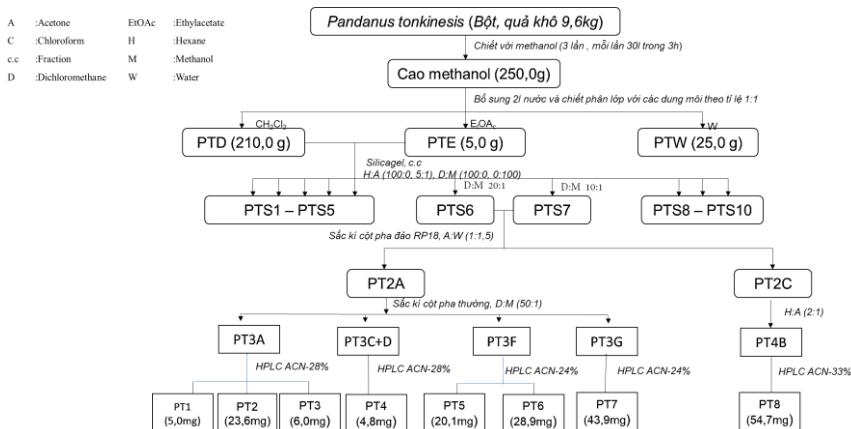
## CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

Chương 2 gồm 13 trang, trình bày chi tiết về các phương pháp được sử dụng trong luận án để phân lập, xác định cấu trúc, đánh giá hoạt tính sinh học chống oxy hóa và kháng viêm của các chất phân lập từ *Pandanus tonkinensis*. Phương pháp lựa chọn chất đánh dấu, chiết xuất, tinh chế chất đánh dấu từ dược liệu, xây dựng và thẩm định quy trình phân tích định lượng chất đánh dấu trong dược liệu bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao.

## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

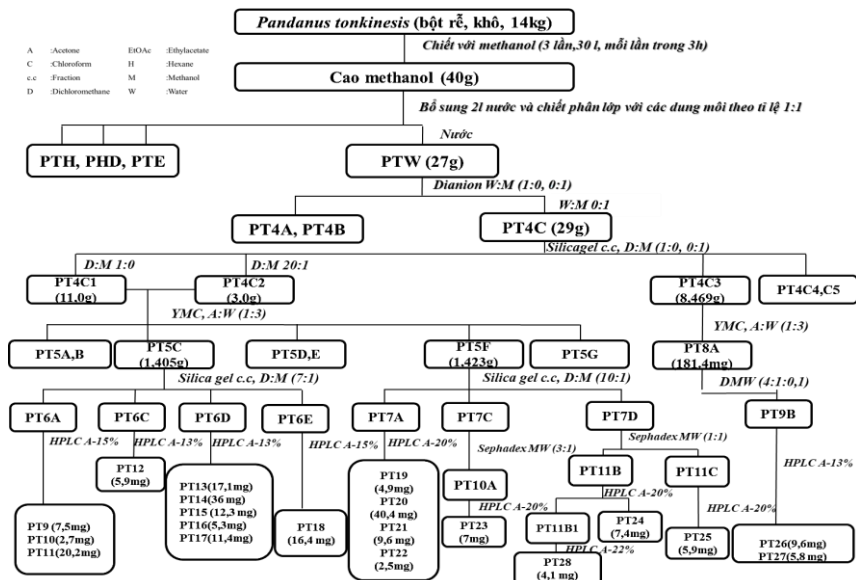
### 3.1. Phân lập và xác định các hợp chất từ loài *Pandanus tonkinensis*

#### 3.1.1. Quy trình phân lập các hợp chất từ quả *Pandanus tonkinensis*



Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ quả *Pandanus tonkinensis*

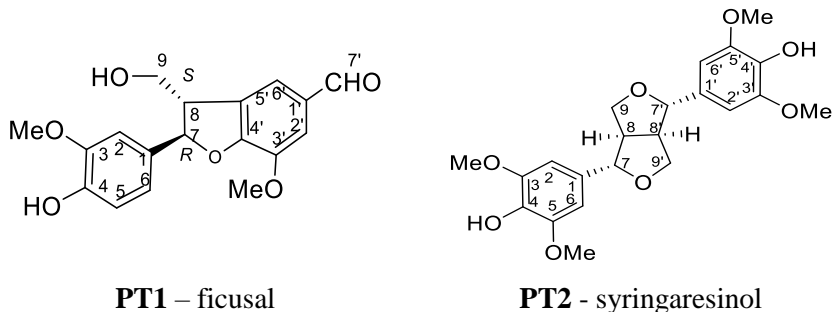
### 3.1.2. Phân lập các hợp chất từ rễ *Pandanus tonkinensis*

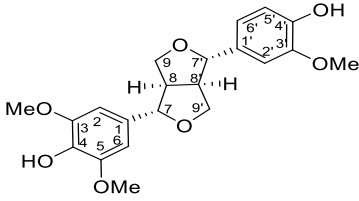


Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ rễ *Pandanus tonkinensis*

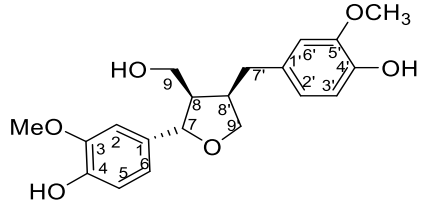
### 3.1.3. Xác định các hợp chất phân lập từ quả *Pandanus tonkinensis*

Từ quả *Pandanus tonkinensis* đã phân lập được 8 hợp chất tinh khiết gồm: ficalal (PT1), syringaresinol (PT2), medioresinol (PT3), lariciresinol (PT4), secoisolariciresinol (PT5), vladinol F (PT6), luteoliflavan (PT7), isorhapontigenin (PT8).

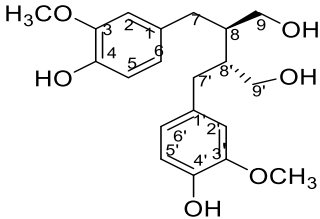




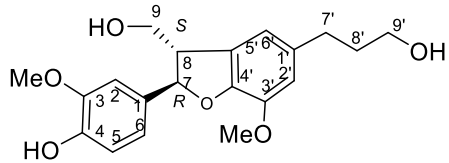
PT3 - medioresinol



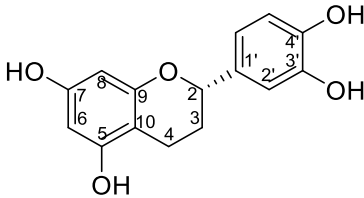
PT4 - lariciresinol



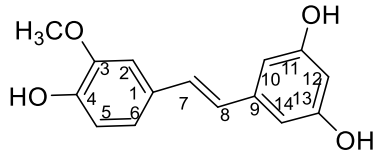
PT5 - secoisolariciresinol



PT6 - vladinol F



PT7 - luteoliflavan



PT8 - isorhapontigenin

Hình 3.3. Cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập từ quả *Pandanus tonkinensis*

### 3.1.4. Xác định các hợp chất phân lập từ rễ *Pandanus tonkinensis*

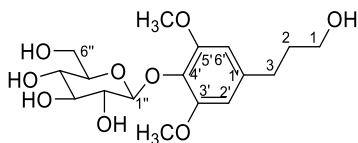
Từ rễ *Pandanus tonkinensis* đã phân lập được 20 hợp chất trong đó có 3 hợp chất mới và 17 hợp chất đã biết.

3 hợp chất mới gồm: (7*S*)-2,6-dimethoxyphenyl-7-propanol-1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT10**), *trans*-cinnamyl alcohol 9-*O*-(6'-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT25**), 4-(3-hydroxypropyl)-2,6-dimethoxyphenol  $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT26**).

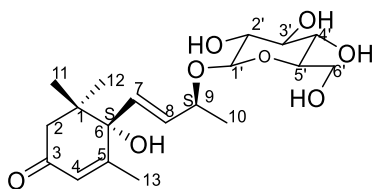
17 hợp chất đã biết bao gồm: dihydrosyringin (**PT9**), (6*S*,9*S*)-roseoside (**PT11**), 1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-2-{2,6-dimethoxy-4-[1-(*E*)-



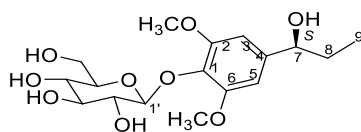
propen-3-ol]phenoxy}propan-3-ol (**PT12**), 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol (**PT13**), benzyl O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT14**), 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2,6-dimethoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol (**PT15**), (7*R*,8*R*)-threo-4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxyl-8-O-4'-neolignan-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT16**), (7*S*,8*S*)-threo-4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxyl-8-O-4'-neolignan-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT17**), pinoresinol-4,4'-di-O- $\beta$ -D-glucoside (**PT18**), isoeucemmin A (**PT19**), pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT20**), acanthoside B (**PT21**), eucemmin A (**PT22**), rourinoside (**PT23**), (7*S*,8*R*)-5-methoxydihydrodehydrodiconiferyl alcohol-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT24**), kelampayoside A (**PT27**), urolignoside (**PT28**).



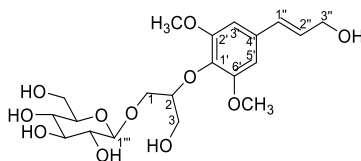
**PT9** – dihydroxyresorcinol



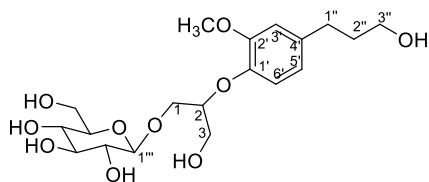
**PT11** - (6*S*,9*S*)-roseoside



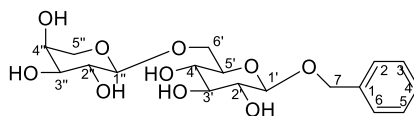
**PT10** - (7*S*)-2,6-dimethoxyphenyl-7-propanol-1-O- $\beta$ -D-glucopyranoside



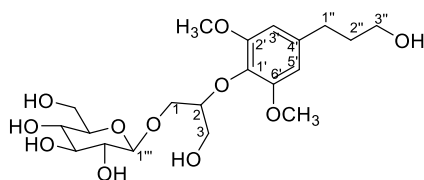
**PT12** - 1-O- $\beta$ -Dglucopyranosyl-2-{2,6-dimethoxy-4-[1-(*E*)-propen-3-ol]phenoxy}propan-3-ol



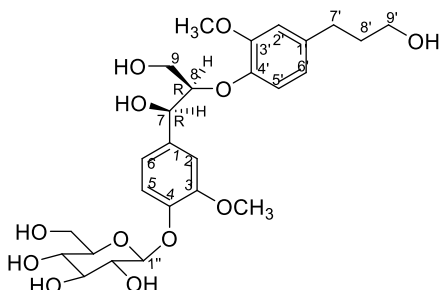
**PT13** - 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol



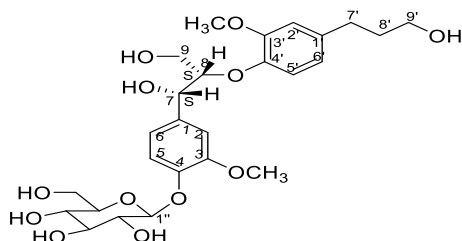
**PT14** - benzyl O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside



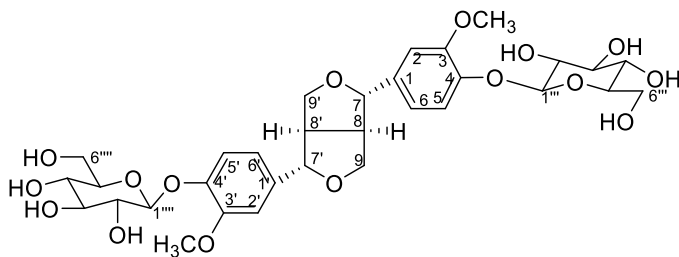
**PT15** - 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2,6-dimethoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol



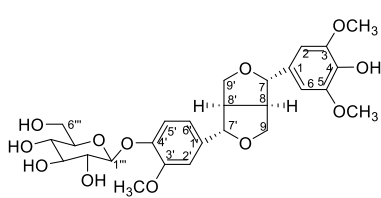
**PT16** - (*7R,8R*)-threo-4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxy-8-O-4'-neolignan-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside



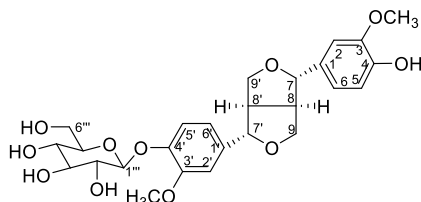
**PT17** - (*7S,8S*)-threo-4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxy-8-O-4'-neolignan-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside



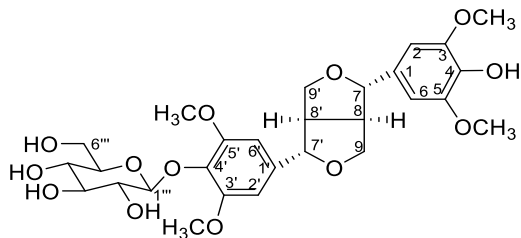
**PT18** - pinoresinol-4,4'-di-O- $\beta$ -D-glucoside



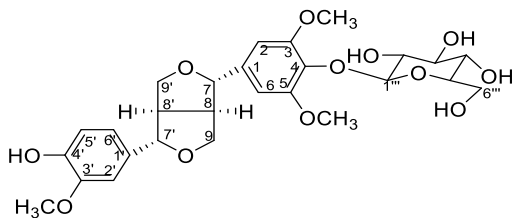
**PT19** - isoeucommin A



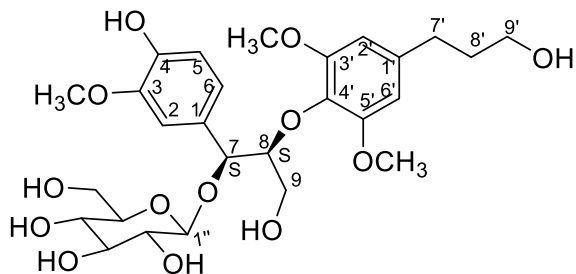
**PT20** - pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside



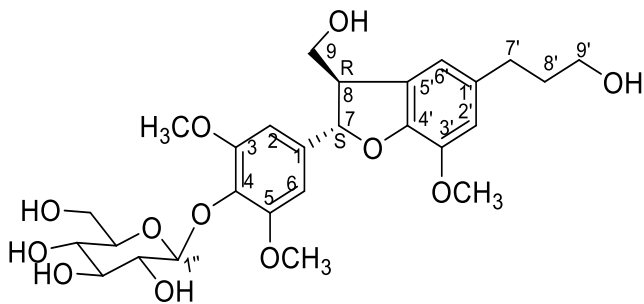
**PT21** - acanthoside B



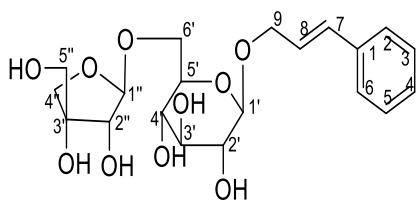
**PT22** - eucommin A



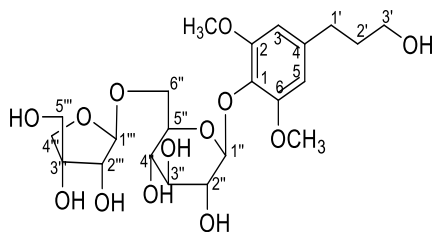
**PT23** - rourinose



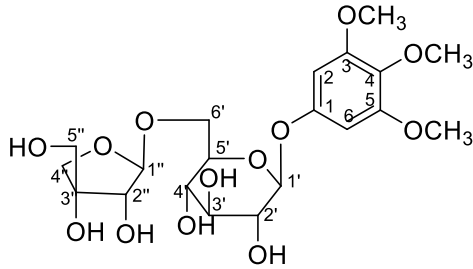
**PT24** - (7*S*,8*R*)-5-methoxydihydrodehydrodiconiferyl alcohol-4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside



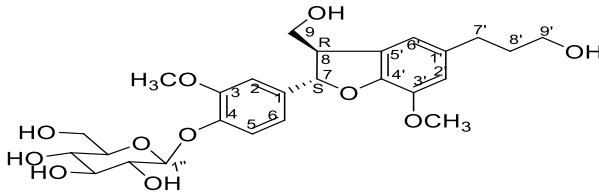
**PT25** - *trans*-cinnamyl alcohol 9-*O*-(6'-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside



**PT26** - 4-(3-hydroxypropyl)-2,6-dimethoxyphenol  $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside



**PT27** - kelampayoside A



**PT28** - urolignoside

Hình 3.4. Cấu trúc hóa học các hợp chất được phân lập từ rễ *Pandanus tonkinensis*

### 3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được

#### 3.2.1. Hoạt tính kháng viêm của các chất đã phân lập thông qua ức chế quá trình sản sinh NO trên tế bào RAW 264,7 được kích thích bởi LPS

Hoạt tính kháng viêm của các hợp chất đã phân lập được trình bày trong bảng 3.1. Kết quả thử nghiệm cho thấy 22 chất **PT1 - PT9, PT10, PT11, PT13, PT15 - PT17, PT20, PT22 - PT27** đã thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO với giá trị  $IC_{50}$  từ 1,78 tới 125,83  $\mu$ M, trong đó 14 chất **PT1, PT4 - PT7, PT9, PT11, PT15, PT16, PT20, PT22, PT23, PT26, PT27** cho khả năng kháng viêm thông qua kết quả  $IC_{50}$  tốt hơn so với đối chứng dương.

*Bảng 3.1. Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các chất phân lập từ dứa dại  
Pandanus tonkinensis*

<b>Chất</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µM)</b>	<b>Chất</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µM)</b>	<b>Chất</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µM)</b>
<b>PT1</b>	17,4 ± 1,94	<b>PT11</b>	28,5 ± 1,76	<b>PT21</b>	-
<b>PT2</b>	126 ± 7,65	<b>PT12</b>	-	<b>PT22</b>	32,2 ± 3,47
<b>PT3</b>	39,3 ± 3,30	<b>PT13</b>	44,4 ± 6,24	<b>PT23</b>	1,93 ± 0,23
<b>PT4</b>	5,25 ± 0,39	<b>PT14</b>	-	<b>PT24</b>	54,0 ± 2,03
<b>PT5</b>	23,0 ± 1,35	<b>PT15</b>	1,78 ± 0,13	<b>PT25</b>	83,3 ± 4,67
<b>PT6</b>	21,4 ± 2,08	<b>PT16</b>	34,4 ± 1,81	<b>PT26</b>	20,1 ± 2,07
<b>PT7</b>	7,08 ± 0,44	<b>PT17</b>	80,3 ± 7,26	<b>PT27</b>	5,84 ± 0,44
<b>PT8</b>	48,3 ± 5,11	<b>PT18</b>	-	<b>PT28</b>	-
<b>PT9</b>	37,0 ± 4,04	<b>PT19</b>	-	<b>L-NMMA</b>	37,8 ± 3,2
<b>PT10</b>	94,0 ± 10,3	<b>PT20</b>	24,7 ± 1,08		

### **3.2.2. Hoạt tính chống oxy hóa của các chất đã phân lập thông qua ức chế quá trình peroxy hoá lipid màng tế bào**

Kết quả xác định hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất đã phân lập từ dứa dại *Pandanus tonkinensis* được trình bày ở bảng 3.2.

Trong thử nghiệm chất đối chứng dương trolox hoạt động ổn định cho giá trị IC<sub>50</sub> là 31,4 ± 2,2 µM. 10 hợp chất bao gồm **PT2, PT4 - PT8, PT19 - PT22** thể hiện hoạt tính ức chế quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào với giá trị IC<sub>50</sub> từ 10,36 đến 126,39 µM. Như vậy 10 hợp chất này có thể hiện khả năng chống oxy hóa trong đó 5 chất **PT5, PT7, PT8, PT20, PT21** khả năng chống oxy hóa tốt hơn so với đối chứng dương.

Bảng 3.2. Hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid màng tế bào của các chất phân lập từ dứa dại *Pandanus tonkinensis*

Chất	IC <sub>50</sub> (μM)	Chất	IC <sub>50</sub> (μM)	Chất	IC <sub>50</sub> (μM)
<b>PT1</b>	-	<b>PT11</b>	-	<b>PT21</b>	27,5 ± 2,76
<b>PT2</b>	126 ± 5,57	<b>PT12</b>	-	<b>PT22</b>	54,2 ± 3,54
<b>PT3</b>	-	<b>PT13</b>	-	<b>PT23</b>	-
<b>PT4</b>	32,2 ± 1,42	<b>PT14</b>	-	<b>PT24</b>	-
<b>PT5</b>	20,2 ± 1,71	<b>PT15</b>	-	<b>PT25</b>	-
<b>PT6</b>	84,8 ± 6,69	<b>PT16</b>	-	<b>PT26</b>	-
<b>PT7</b>	26,3 ± 3,57	<b>PT17</b>	-	<b>PT27</b>	-
<b>PT8</b>	23,3 ± 1,67	<b>PT18</b>	-	<b>PT28</b>	-
<b>PT9</b>	-	<b>PT19</b>	57,5 ± 5,53	<b>Trolox</b>	31,4 ± 2,20
<b>PT10</b>	-	<b>PT20</b>	10,4 ± 0,71		

### 3.3. Chất đánh dấu

Trong bước lựa chọn chất đánh dấu, dược liệu được chiết bằng methanol 50%. Dịch chiết được phân tích sơ bộ bằng HPLC detector DAD sử dụng bước sóng hấp thụ 210 nm. 06 hợp chất tinh khiết có lượng tách ra ở mức cao nhất trong dược liệu bao gồm **PT8**, **PT7**, **PT6** và **PT20**, **PT15**, **PT11** được hòa tan trong dung môi methanol 50% và bơm vào thiết bị HPLC sử dụng cùng điều kiện phân tích với dịch chiết dược liệu. So sánh thời gian lưu của các tín hiệu phát hiện trong sắc ký đồ phân tích sơ bộ dược liệu và thời gian lưu của 6 hợp chất nói trên, cũng như phổ UV của chúng. Kết quả cho thấy trong sắc ký đồ phân tích sơ bộ dược liệu có hai tín hiệu có thời gian lưu gần trùng với thời gian lưu của **PT20** và **PT6**. Thực hiện việc thêm chuẩn **PT20** và **PT6** vào nền dịch chiết mẫu dược liệu khẳng định sự có mặt của **PT20** và **PT6** trong dịch chiết mẫu dược liệu. Dựa vào kết quả phân tích sơ bộ mẫu dược liệu và các chất đơn, hai hợp chất số **PT20** và **PT6** được

định hướng lựa chọn là 2 chất đánh dấu cho dược liệu *Pandanus tonkinensis*. Một điểm đáng chú ý là cả hai hợp chất này đều có hoạt tính kháng viêm và chống oxy hóa theo thử nghiệm sàng lọc *in vitro*.

Sau khi đã chiết xuất, tinh chế 2 chất PT2B1A và PT2D1A, đo một số dữ liệu đặc trưng cho cấu trúc của chúng bao gồm: Phổ khối, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, phổ UV-Vis, phổ hồng ngoại; so sánh với tài liệu tham khảo đã xác nhận lại cấu trúc PT2B1A hay **PT20** là pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và PT2D1A là vladinol F (**PT6**). Độ tinh khiết của 2 chất đã tách chiết được xác định qua phân tích HPLC trên cơ sở diện tích tín hiệu chất phân tích so với tổng diện tích các tín hiệu cho kết quả tương ứng là 98,0% đối với pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và 98,7% đối với vladinol F.

### **3.4. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng hợp chất pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và chất vladinol F trong dược liệu dứa dại *Pandanus tonkinensis***

#### **3.4.1. Khảo sát quy trình xử lý mẫu dược liệu trước khi phân tích**

Sử dụng các dung môi methanol 50% hoặc ethanol 50%, chiết chất phân tích (**PT20** và **PT6**) ra khỏi dược liệu với tỷ lệ 10g bột dược liệu/100 ml dung môi, với mỗi loại dung môi thực hiện chiết 3 lần có hỗ trợ siêu âm mỗi lần 30 phút, gộp dịch chiết, cô quay và hòa tan lại cao trong 5 ml dung môi thu dịch chiết cuối lần 1. Lặp lại quá trình chiết nói trên thu dịch chiết cuối lần 2. Phân tích các dịch chiết cuối lần 1, lần 2 của từng dung môi bằng kĩ lưỡng hiệu năng cao (HPLC), so sánh các kết quả để lựa chọn dung môi, số lần chiết để có khả năng tách chiết các chất phân tích hiệu quả nhất. Kết quả khảo sát cho thấy điều kiện xử lý mẫu dược liệu lựa chọn là methanol 50% và chiết 1 lần.



### 3.4.2. Quy trình định lượng hợp chất pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và chất vladinol F trong dược liệu dứa dại *Pandanus tonkinensis*

Qua khảo sát sơ bộ, các điều kiện sau đã được sử dụng cho phân tích định lượng hai chất đánh dấu: HPLC sử dụng detector mảng diod (DAD), cột C18 (250 mm  $\times$  4,6 mm; 5 $\mu$ m); nhiệt độ cột tách: 40°C; pha động A (acetonitrile) và pha động B (dung dịch acid acetic 0,1%) với chương trình gradient dung môi: xuất phát từ tỷ lệ pha động A : B = 10 : 90 (v:v), tăng lên 30 : 70 (v : v) trong 30 phút, tăng lên 90 : 10 (v : v) trong 10 phút tiếp theo, chuyển về tỷ lệ 10 : 90 ban đầu trong 10 phút ổn định cột; tốc độ dòng pha động: 1,0 ml/phút; bước sóng phát hiện tại 228 nm.

Các dung dịch cho thực nghiệm được chuẩn bị như sau: i) *Các dung dịch chuẩn gốc PT20 và PT6*: được pha riêng rẽ bằng cách cân chính xác khoảng 5 mg chuẩn vào bình định mức 5 ml, thêm khoảng 3 ml methanol 50%, lắc siêu âm để hòa tan rồi định mức vừa đủ, trộn đều; ii) *Dung dịch chuẩn hỗn hợp*: hút chính xác lần lượt 1,0 ml dung dịch chuẩn gốc **PT20** và 1,0 ml dung dịch chuẩn gốc **PT6** vào bình định mức 20 ml, thêm methanol 50% vừa đủ đến vạch, lắc đều; iii) *Dung dịch thử*: Cân chính xác khoảng 5,0 g dược liệu vào bình nón 100 ml. Thêm chính xác 50,0 ml methanol 50%, lắc siêu âm 30 phút (chiết 3 lần). Gộp dịch chiết thu được, cô quay đến cao. Hòa tan cao trong 5,0 ml methanol 50% thu được dung dịch thử.

Các mẫu dung dịch chuẩn hỗn hợp và dung dịch thử được tiêm vào cột sắc ký với thể tích 10  $\mu$ l, sắc ký đồ, xác định vị trí và diện tích của tín hiệu **PT20**, **PT6**. Nồng độ **PT20**, **PT6** trong dung dịch tiêm vào máy sắc ký được xác định theo phương pháp đường chuẩn. Hàm lượng **PT20**, **PT6** trong dược liệu được tính theo nồng độ **PT20**, **PT6** trong dung dịch tiêm vào máy và các thông số của quá trình xử lý mẫu như thể tích dung dịch tiêm (5 ml) và lượng dược liệu (tính theo dược liệu khô) theo công thức:

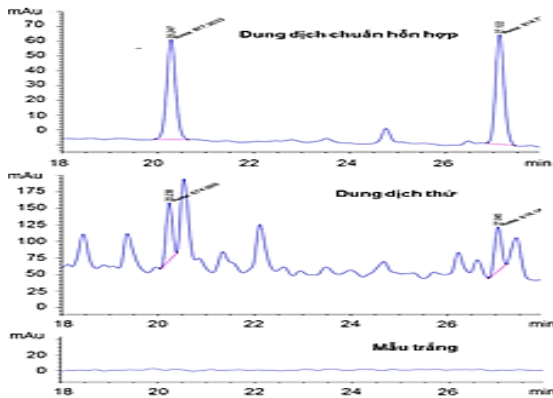
$$C_{PT20, PT6 \text{ trong dược liệu}} \text{ (mg/g)} = \frac{C_{PT20, PT6 \text{ trong dịch tiêm}} \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) \times 5 \text{ (ml)}}{m_{\text{dược liệu}} \text{ (g)} \times (1 - \text{độ ẩm dược liệu})}$$

### 3.4.3. Thẩm định quy trình định lượng hợp chất pinoresinol 4'-O-β-D-glucopyranoside và chất vladinol F trong dược liệu dứa dại *Pandanus tonkinensis*

Quy trình định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của Hiệp hội các Tổ chức hóa học phân tích chính thống (AOAC) và Hội nghị quốc tế về hài hòa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho người (ICH) với các chỉ tiêu: tính đặc hiệu, độ thích hợp của hệ thống, khoảng đường chuẩn, độ chụm (độ lặp lại và độ tái lặp), độ đúng, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

#### 3.4.3.1. Tính đặc hiệu

Thực nghiệm cho thấy trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện các pic có thời gian lưu 20,230 phút và 27,045 phút tương ứng với pic **PT20** (20,247 phút) và pic **PT6** (27,122 phút) trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn hỗn hợp. Phổ UV của pic có thời gian lưu 20,230 phút thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với phổ UV của pic **PT20** thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn hỗn hợp với  $\lambda_{\text{max}} = 228,2 \text{ nm}$  và  $280,0 \text{ nm}$ .



Hình 3.5. Sắc ký đồ của dung dịch chuẩn hỗn hợp, dung dịch thử và mẫu trắng

Phổ UV của pic có thời gian lưu 27,045 phút thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với phổ UV của pic **PT6** thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn hỗn hợp với  $\lambda_{\max} = 280,0$  nm. Các pic **PT20** và **PT6** trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn hỗn hợp là tinh khiết. Mẫu trắng (dung môi methanol 50%) không ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Các kết quả này cho thấy quy trình phân tích đạt yêu cầu về tính đặc hiệu.

#### 3.4.3.2. Độ thích hợp hệ thống

Kết quả đánh giá độ thích hợp của hệ thống được trình bày trong bảng 3.3. Giá trị độ lệch chuẩn tương đối về thời gian lưu của pic **PT20**, **PT6** khi phân tích lặp lại ( $n = 6$ ) dung dịch chuẩn hỗn hợp ở một mức nồng độ lần lượt là 0,12% và 0,07% đạt yêu cầu  $\leq 1,0\%$ , giá trị độ lệch chuẩn tương đối về diện tích pic của pic **PT20**, **PT6** lần lượt là 1,31% và 1,35% đạt yêu cầu  $\leq 2,0\%$ . Hệ số tương đồng của **PT20** và **PT6** giữa hai mức nồng độ được phân tích lặp có giá trị  $RF = 1,01$  và  $RF = 1,00$ . Như vậy các điều kiện sắc ký đã lựa chọn cho kết quả lặp lại về thời gian lưu và diện tích pic hệ thống thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao đã sử dụng là phù hợp đảm bảo độ ổn định của phép phân tích.

Bảng 3.3. Kết quả đánh giá độ thích hợp của hệ thống

	Thời gian lưu pic <b>PT20</b> (phút)	Diện tích pic <b>PT20</b> (mAU.s)	Thời gian lưu pic <b>PT6</b> (phút)	Diện tích pic <b>PT6</b> (mAU.s)
Trung bình ( $n=6$ )	20,293	878,87132	27,115	899,61777
RSD (%)	0,12	1,31	0,07	1,35
Hệ số tương đồng		$RF = 1,01$		$RF = 1,00$

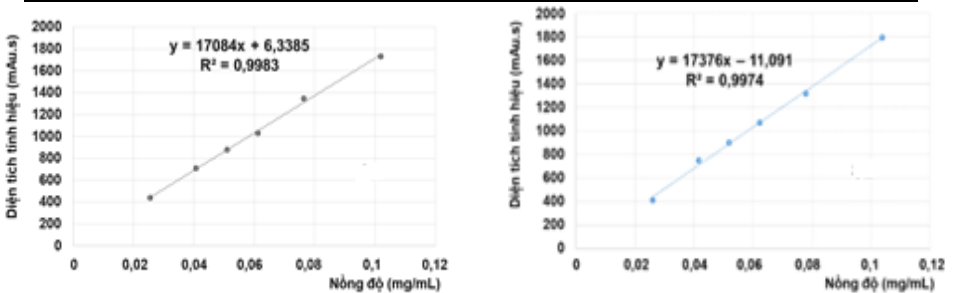
#### 3.4.3.3. Khoảng đường chuẩn để định lượng

Kết quả khảo sát khoảng đường chuẩn được trình bày trong bảng 3.4 và hình 3.7. Trong khoảng nồng độ từ  $25,5 \times 10^{-3}$  tới  $101,9 \times 10^{-3}$  mg/ml đối với **PT20** có sự phụ thuộc tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ **PT20** với hệ số tương quan tuyến tính  $R^2 = 0,9983$ . Trong khoảng nồng độ từ  $26,0 \times$

$10^{-3}$  tới  $103,9 \times 10^{-3}$  mg/ml đối với **PT6** có sự phụ thuộc tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ **PT6** với hệ số tương quan tuyến tính  $R^2 = 0,9974$ . Như vậy các đường chuẩn có tính tuyến tính tốt để phân tích định lượng **PT20** và **PT6**.

**Bảng 3.4.** Kết quả khảo sát khoảng đường chuẩn định lượng **PT20** và **PT6**

Chất đánh dấu	PT20		PT6	
	Nồng độ (mg/mL)	Diện tích pic (mAU.s)	Nồng độ (mg/mL)	Diện tích pic (mAU.s)
Khoảng đường chuẩn	$25,5 \times 10^{-3}$	436,59933	$26,0 \times 10^{-3}$	411,81412
	$40,8 \times 10^{-3}$	708,55096	$41,6 \times 10^{-3}$	749,87158
	$51,0 \times 10^{-3}$	878,87132	$51,9 \times 10^{-3}$	899,61777
	$61,2 \times 10^{-3}$	1028,60651	$62,3 \times 10^{-3}$	1071,64014
	$76,4 \times 10^{-3}$	1345,65894	$77,9 \times 10^{-3}$	1318,18884
	$101,9 \times 10^{-3}$	1733,94653	$103,9 \times 10^{-3}$	1799,81677
Phương trình hồi qui	$y = 17084x + 6,3385$		$y = 17376x - 11,091$	
Hệ số tương quan	$R^2 = 0,9983 > 0,99$		$R^2 = 0,9974 > 0,99$	
% Y	0,72% (< 2,0%)		1,23% (< 2,0%)	



**Hình 3.6.** Các đường chuẩn định lượng pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT20**) và vladinol F (**PT6**).

#### 3.4.3.4. Độ chụm

Kết quả thu được khi phân tích mẫu thử 6 lần độc lập trong 2 ngày khác nhau, với 2 kiểm nghiệm viên khác nhau, được sử dụng để đánh giá độ chụm (độ lặp lại và độ tái lặp).

\* *Độ lặp lại**Bảng 3.5. Kết quả khảo sát độ lặp lại*

Mẫu thử	Lượng cân (g)	S <sub>pic</sub> PT20 (mAU.s)	S <sub>pic</sub> PT6 (mAU.s)	Hàm lượng PT20 (mg/g)	Hàm lượng PT6 (mg/g)
1	5,10042	674,06952	616,18457	0,0404	0,0367
2	5,32086	704,51483	643,13428	0,0404	0,0368
3	5,52441	724,00456	665,42011	0,0400	0,0366
4	5,31051	706,41534	628,91473	0,0406	0,0360
5	5,20041	700,22448	632,86042	0,0411	0,0370
6	5,18079	699,01453	631,08778	0,0412	0,0371
<i>TB</i>				0,0405	0,0366
<i>RSD (%)</i>				1,13	1,02

\* *Độ tái lặp**Bảng 3.6. Kết quả đánh giá độ tái lặp của phương pháp*

	Ngày 1- kiểm nghiệm viên 1 (n = 6)	Ngày 2- kiểm nghiệm viên 2 (n = 6)	Hai ngày (n = 12)
Hàm lượng PT20 trung bình (µg/g)	40,5	41,2	40,9
RSD (%)	1,13	1,43	1,54
Hàm lượng PT6 trung bình (µg/g)	36,6	36,7	36,7
RSD (%)	1,02	1,67	1,32

Kết quả cụ thể trong bảng 3.5, bảng 3.6 cho thấy phương pháp đã xây dựng có độ lặp lại khi RSD (n = 6) đối với **PT20** và **PT6** đều nhỏ hơn 5,3% và độ tái lặp RSD (n = 12) đối với **PT20** và **PT6** đều nhỏ hơn 8% đáp ứng các yêu cầu qui định theo hướng dẫn của AOAC với mẫu thử có hàm lượng từ 0,001% đến 0,01%.

3.4.3.5. *Độ đúng và khoảng làm việc*

Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp được trình bày trong bảng 3.7. Giá trị trung bình của hiệu suất thu hồi **PT20** ở cả 3 mức thêm có giá trị từ 99% đến 101% với độ lệch chuẩn tương đối từ 0,06% đến 1,41%; với **PT6**, trung bình hiệu suất thu hồi ở 3 mức nồng độ có giá trị từ 101% đến 102% và độ lệch chuẩn tương đối từ 0,55% đến 1,31%.

*Bảng 3.7. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp*

Mức nồng độ định lượng (% so với mẫu thử)	Lượng chuẩn thêm vào trung bình ( $\mu\text{g}$ )	Lượng chuẩn thêm tìm lại trung bình ( $\mu\text{g}$ )	Hiệu suất thu hồi trung bình (%)	RSD (%) (n = 3)
PT20: 50%	6,29	6,38	101	0,06
100%	12,58	12,66	101	0,82
150%	25,17	25,03	99	1,41
PT6: 50%	6,41	6,44	101	0,96
100%	12,82	13,01	101	0,55
150%	25,64	25,76	100	1,31

Theo yêu cầu của AOAC với mẫu có hàm lượng từ 0,001% đến 0,01%, độ thu hồi mẫu trung bình phải đạt từ 90% đến 107%, như vậy phương pháp phân tích đảm bảo về độ đúng để định lượng **PT20** và **PT6**.

#### *3.4.3.6. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng:*

Pha loãng dần dung dịch chuẩn và tiêm vào thiết bị sắc ký đến nồng độ **PT20** 0,76  $\mu\text{g/ml}$  và **PT6** 0,78  $\mu\text{g/ml}$  thì thu được pic **PT20** và **PT6** có đáp ứng gấp khoảng 3 lần độ nhiễu đường nền. Pha loãng gấp đôi dung dịch trên, tiêm vào thiết bị sắc ký, hầu như không xuất hiện đáp ứng pic trên sắc ký đồ. Như vậy, giới hạn phát hiện của thiết bị (IDL) với dung dịch chuẩn ở khoảng 0,76  $\mu\text{g/ml}$  **PT20** và 0,78  $\mu\text{g/ml}$  **PT6**. Theo tính toán giới hạn định lượng của thiết bị (IQL) đối với dung dịch chuẩn sẽ ở khoảng gấp 3,3 lần IDL, tương ứng với nồng độ 2,55  $\mu\text{g/ml}$  **PT20** và 2,60  $\mu\text{g/ml}$  **PT6**.

Pha các dung dịch chuẩn hỗn hợp (dung dịch IQL<sub>chuẩn</sub>) và dung dịch chuẩn hỗn hợp thêm vào nền dịch chiết được liệu (dung dịch IQL<sub>spike</sub>) có nồng độ **PT20**, **PT6** tương ứng 2,55  $\mu\text{g/ml}$  và 2,60  $\mu\text{g/ml}$ . Phân tích sắc ký mỗi dung dịch lặp lại 6 lần. Trên sắc ký đồ của dung dịch IQL<sub>chuẩn</sub> và dung

dịch  $IQL_{\text{spike}}$  các pic **PT20**, **PT6** xuất hiện rõ ràng, RSD ( $n = 6$ ) diện tích pic **PT20**, **PT6** khi phân tích dung dịch  $LOQ_{\text{spike}}$  là 2,87% và 2,31% nhỏ hơn 7,3% theo yêu cầu của AOAC. Như vậy, có thể khẳng định giới hạn định lượng đối với **PT20** và **PT6** lần lượt là 2,55  $\mu\text{g/ml}$  và 2,60  $\mu\text{g/ml}$  thu dung dịch thử.

Sử dụng hệ số quy đổi của quy trình xử lý mẫu: 5 g dược liệu chuyển vào 5 ml dung dịch thử tính được giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) là 0,76  $\mu\text{g/g}$  **PT20** và 0,78  $\mu\text{g/g}$  **PT6** dược liệu khô; giới hạn định lượng của phương pháp (MQL) là 2,55  $\mu\text{g/g}$  **PT20** dược liệu khô và 2,60  $\mu\text{g/g}$  **PT6** dược liệu khô.

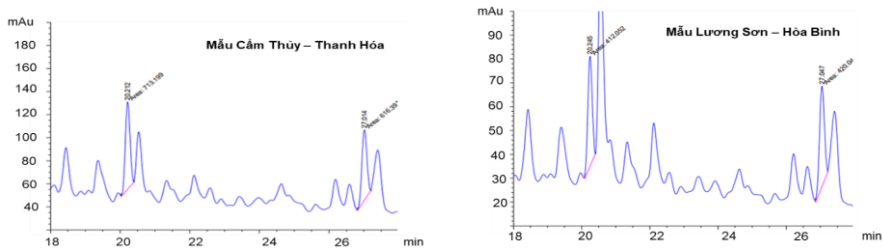
Như vậy kết quả thẩm định trong mục 3.4.3 cho thấy qui trình phân tích đồng thời **PT20** và **PT6** trong dược liệu dứa dại bằng phương pháp HPLC đáp ứng yêu cầu về tính đặc hiệu, độ thích hợp hệ thống, độ tuyến tính, độ đúng, độ chụm (độ lặp lại và độ tái lặp), phù hợp để áp dụng kiểm tra định tính, định lượng đồng thời **PT20** và **PT6** trong dược liệu.

### **3.5. Định lượng pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT20) và vladinol F (PT6) trong loài dứa dại lấy tại một số địa phương**

Sử dụng quy trình phân tích đã thẩm định ở trên đã xác định được hàm lượng trung bình của hai chất đánh dấu trong loài dứa dại Bắc bộ lấy tại Thanh Hóa, Hòa Bình và Thái Nguyên trong khoảng  $25,0 \pm 0,4$  tới  $43,5 \pm 0,4$   $\mu\text{g/g}$  dược liệu khô với pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và  $24,3 \pm 0,5$  tới  $37,1 \pm 0,5$   $\mu\text{g/g}$  dược liệu khô với vladinol F.

*Bảng 3.8. Kết quả định lượng pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT20) và vladinol F (PT6) trong loài dứa dại Pandanus tonkinensis lấy tại một số địa phương*

	Mường Lát - Thanh Hóa	Cắm Thủy - Thanh Hóa	Lương Sơn - Hòa Bình	Định Hóa - Thái Nguyên
<b>PT20:</b>	40,9	43,5	25,0	38,6
Hàm lượng ( $\mu\text{g/g}$ )				
RSD %	1,54	0,9	1,62	0,37
<b>PT6:</b>	36,7	37,1	24,3	30,7
Hàm lượng ( $\mu\text{g/g}$ )				
RSD %	1,32	1,44	1,97	1,96



Hình 3.7. Sắc ký đồ phân tích pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT20) và vladinol F (PT6) trong loài dứa dại *Pandanus tonkinensis*.



## KẾT LUẬN

Sau quá trình thực hiện, luận án đã hoàn thành các nội dung nghiên cứu và đạt được các mục tiêu đề ra ban đầu. Các kết quả nghiên cứu đạt được như sau:

### 1. Nghiên cứu về thành phần hóa học

Sử dụng kết hợp các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại đã phân lập và xác định cấu trúc 28 hợp chất từ quả và rễ của loài *Pandanus tonkinensis*. Trong đó có 3 hợp chất mới. Cụ thể:

- Từ quả loài *P.tonkinensis* phân lập được 8 hợp chất đã biết gồm: ficusal (PT1), syringaresinol (PT2), medioresinol (PT3), lariciresinol (PT4), secoisolariciresinol (PT5), vladinol F (PT6), luteoliflavan (PT7), isorhapontigenin (PT8).

- Từ rễ loài *P.tonkinensis* phân lập được 20 hợp chất. Trong đó có 3 hợp chất mới: (7*S*)-2,6-dimethoxyphenyl-7-propanol-1-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT10); *Trans*-cinnamyl alcohol 9-O-(6'-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT25); 4-(3-hydroxypropyl)-2,6 dimethoxyphenol  $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT26) và 17 hợp chất đã biết dihydroxyringin (PT9); (6*S*,9*S*)-roseoside (PT11); 1-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-2-[2,6-dimethoxy-4-[1-(*E*)-propen-3-ol]phenoxy]propan-3-ol (PT12); 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2-methoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol (PT13); benzyl O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT14); 1-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-[2,6-dimethoxy-4-( $\omega$ -hydroxypropyl)-phenoxy]-propan-3-ol (PT15); (7*R*,8*R*)-threo-4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxyl-8-O-4'-neolignan-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT16); (7*S*,8*S*)-threo-4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxyl-8-O-4'-neolignan-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT17); pinoresinol-4,4'-di-O- $\beta$ -D-glucoside (PT18); isoeucommin A (PT19); pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (PT20); acanthoside B (PT21); eucommin A (PT22); rourinoside (PT23); (7*S*,8*R*)-5-methoxydihydrodehydrodiconiferyl alcohol-

4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**PT24**); kelampayoside A (**PT27**); urolignoside (**PT28**).

## 2. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học

- Đã tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm và chống oxy hóa của 28 hợp chất phân lập được từ quả và rễ của loài *P.tonkinensis* bằng thử nghiệm ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW 264,7; cảm ứng bằng LPS và thử nghiệm ức chế quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào. Kết quả cho thấy:

- 22 hợp chất **PT1 - PT11, PT13, PT15 - PT17, PT20, PT22 - PT27** thể hiện khả năng kháng viêm trong đó 14 hợp chất **PT1, PT4 - PT6, PT7, PT9, PT11, PT15, PT16, PT20, PT22, PT23, PT26, PT27** có giá trị  $IC_{50}$  từ 1,78 – 37,03 cho khả năng kháng viêm thông qua kết quả  $IC_{50}$  tốt hơn so với đối chứng dương L - NMMA ( $IC_{50}$  37,8).

- 10 hợp chất số **PT2, PT4 - PT8, PT19 - PT22** thể hiện khả năng chống oxy hóa trong đó 5 chất **PT5, PT7, PT8, PT20, PT21** có giá trị  $IC_{50}$  từ 10,36 – 27,45 khả năng chống oxy hóa tốt hơn so với đối chứng dương trolox ( $IC_{50}$  31,4).

## 3. Nghiên cứu về chất đánh dấu

- Chiết xuất và tinh chế được 2 chất đánh dấu cho loài *P. tonkinensis* là pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và vladinol F với độ tinh khiết 98%

- Xây dựng được quy trình phân tích định lượng 2 chất đánh dấu này theo phương pháp HPLC- DAD. Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp phân tích có tính đặc hiệu, có khoảng đường chuẩn tuyến tính từ 25,5 tới 101,9  $\mu\text{g/ml}$  ( $R^2 = 0,9983$ ) và từ 26,0 tới 103,9  $\mu\text{g/ml}$  ( $R^2 = 0,9974$ ) cho hai chất đánh dấu, có độ chính xác tốt ( $RSD < 2\%$ ), độ đúng cao (hiệu suất thu hồi trong khoảng 99,4 tới 101,5%), giới hạn định lượng với pinoresinol 4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và vladinol F lần lượt là 2,55  $\mu\text{g/g}$  và 2,60  $\mu\text{g/g}$  được liệu khô.

**KIẾN NGHỊ**

Có thể sử dụng hai hợp chất pinoresinol 4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và vladinol F đã chiết xuất tinh chế được làm chất chuẩn và quy trình phân tích định lượng đã thẩm định để kiểm soát chất lượng dược liệu và nghiên cứu quá trình sản xuất các chế phẩm bảo vệ gan từ loài *Pandanus tonkinensis*