

DETERMINATION OF ACID CHLOROGENIC CONTENT IN ELEUTHEROCOCCUS TRIFOLIATUS COLLECTED IN SIN HO DISTRICT, LAI CHAU PROVINCE BY HIGH-PERFORMANCE CHROMATOGRAPHIC METHOD

Nguyen Thu Quynh*, Le Thu Tra, Nguyen Duy Thu, Lai Thi Ngoc Anh, Nguyen Thi Thu Huyen
TNU - University of Medicine and Pharmacy

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 04/12/2024	The purpose of this study is to determine the content of chlorogenic acid in the medicinal herb (<i>Eleutherococcus trifoliatus</i> (L.) S.Y.Hu) harvested in Sin Ho district, Lai Chau province, using high-performance liquid chromatography (HPLC). In the study, the medicinal herb sample was extracted and processed using ultrasound, with a solvent comprising 5% formic acid solution in 50% methanol. The content of chlorogenic acid in the extract was quantified by HPLC under the following conditions: reversed-phase column (C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 µm), a water-acetonitrile mobile phase (containing 0.1% phosphoric acid) at an 80:20 ratio, a sample injection volume of 20 µL, a flow rate of 0.8 mL/min, and a detection wavelength of 327 nm. The analytical method was evaluated for its system suitability, specificity, linearity, and accuracy. The study reported a chlorogenic acid peak with a retention time of approximately 5.6 minutes. Quantitative methods met the criteria for specificity and system suitability. Accuracy had an average recovery rate of 99.8%. Linear ranges were established for chlorogenic acid concentrations between 18.7 µg/mL and 93.6 µg/mL, with a correlation coefficient (R^2) of 0.9996. Applying the quantitative method, the chlorogenic acid content in the research sample was determined to be $0.0443 \pm 0.004\%$.
Revised: 21/01/2025	
Published: 22/01/2025	
KEYWORDS	Acid chlorogenic Medicinal herb HPLC Determine <i>Eleutherococcus trifoliatus</i>

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ACID CHLOROGENIC TRONG
DUỐC LIỆU NGŨ GIA BÌ GAI THU HÁI TẠI HUYỆN SÌN HỒ,
TỈNH LAI CHÂU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

Nguyễn Thu Quỳnh*, Lê Thu Trà, Nguyễn Duy Thủ, Lại Thị Ngọc Anh, Nguyễn Thị Thu Huyền
Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 04/12/2024	Mục đích của nghiên cứu là xác định hàm lượng CGA trong dược liệu ngũ gia bì gai (<i>Eleutherococcus trifoliatus</i> (L.) S.Y.Hu) được thu hái ở huyện Sìn Hồ, tỉnh Lai Châu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Trong nghiên cứu, mẫu dược liệu được chiết ngâm kết hợp siêu âm, với dung môi là dung dịch axit formic 5% trong methanol 50%. Hàm lượng axit chlorogenic trong dịch chiết được xác định bằng phương pháp HPLC với điều kiện: cột pha đảo (C18, 250 mm × 4,6 mm, 5 µm), pha động là nước và acetonitril (chứa 0,1% acid phosphoric) theo tỷ lệ 80:20, thể tích tiêm mẫu 20 µl, tốc độ dòng 0,8 ml/phút, bước sóng 327 nm. Phương pháp được thẩm định về độ phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác và độ đúng. Kết quả thu được cho thấy pic CGA có thời gian lưu khoảng 5,6 phút. Phương pháp định lượng đạt yêu cầu về độ đặc hiệu và tính thích hợp của hệ thống; độ đúng có tỷ lệ tìm lại trung bình 99,8%, khoảng tuyến tính được xây dựng với nồng độ CGA từ 18,7 µg/ml đến 93,6 µg/ml, với hệ số $R^2 = 0,9998$. Áp dụng phương pháp định lượng, hàm lượng CGA trong mẫu nghiên cứu được xác định là $0,0443 \pm 0,004\%$.
Ngày hoàn thiện: 21/01/2025	
Ngày đăng: 22/01/2025	
TỪ KHÓA	Acid chlorogenic Dược liệu HPLC Xác định <i>Eleutherococcus trifoliatus</i>

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.11651>

* Corresponding author. Email: nguyenthuquynh@tnmc.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Ngũ gia bì gai (*Eleutherococcus trifoliatus* (L.) S.Y.Hu) là một trong những cây thuốc có giá trị, được sử dụng rộng rãi trong Y học cổ truyền Việt Nam. Cây thường phân bố ở các tỉnh dọc theo biên giới phía Bắc như Lạng Sơn (huyện Bắc Sơn, Tràng Định), Lai Châu (huyện Phong Thổ, Sìn Hồ),... Người dân tộc Dao đã sử dụng vỏ thân, vỏ rễ của loài cây này để chữa các bệnh đau nhức xương khớp rất hiệu quả. Thành phần hóa học của ngũ gia bì gai thường chứa acid chlorogenic, acid isochlorogenic A và acid isochlorogenic C, cynarin, acid 3,5-dicaffeoylquinic, acid 1,4-dicaffeoylquinic và acid 4,5-dicaffeoylquinic, rutin,... [1]-[3]. Trong đó, acid chlorogenic (CGA) có vai trò chất chống oxy hóa, chống viêm kháng khuẩn, chống viêm và bảo vệ một số cơ quan của cơ thể với nhiều tác dụng sinh học được ghi nhận như làm giảm nguy cơ tăng huyết áp, xơ vữa động mạch, béo phì và tiêu đường tuýp II [4], [5], tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan và ung thư phổi ở những con chuột mang khối u và ngăn chặn sự phát triển khối u mới ở những con chuột đang mang khối u [6], bảo vệ gan (bị tổn thương gan do rượu) thông qua hệ vi sinh vật đường ruột [7]. Với nhiều kết quả khả quan về tác dụng được lý, CGA được coi là một hợp chất hữu cơ tiềm năng để phát triển trong tương lai. Trong Dược điển Việt Nam V, dược liệu ngũ gia bì gai có một số tiêu chuẩn chất lượng về đặc điểm thực vật, vi phẫu bột dược liệu, định tính, độ ẩm, tỷ lệ vụn nát, tạp chất,... [8], nhưng chưa có tiêu chuẩn hàm lượng. Xuất phát từ thực tiễn trên, nghiên cứu tiến hành nghiên cứu định lượng CGA trong ngũ gia bì gai (*Eleutherococcus trifoliatus* (L.) S.Y.Hu) bằng phương pháp HPLC để góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu này.

2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu dùng trong nghiên cứu

Thiết bị: Cân phân tích Sartorius TE 214S của Nhật; Cân kỹ thuật Sartorius TE 3102S của Nhật; Tủ sấy ETROLAB của Đức; Máy siêu âm Banson; Cân xác định hàm ẩm nhanh Sartorius; Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Hitachi LaChrom Elite L-2400.

Hóa chất, chất chuẩn: Methanol, acetonitril, nước cất 2 lần, acid formic (loại HPLC), axit phosphoric (loại HPLC). Chất chuẩn CGA (Trung Quốc, hàm lượng 98%).

Mẫu nghiên cứu: Bộ phận thân của cây ngũ gia bì gai được thu mua tại Sìn Hồ, Lai Châu, đem sấy khô ở nhiệt độ 70°C, bảo quản trong túi PE kín.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Hàm lượng CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), được tiến hành với các bước như sau:

Bước 1: Chuẩn bị dung dịch thử và dung dịch chuẩn

- Dung dịch thử: Cân chính xác 1 g bột dược liệu thân ngũ gia bì gai cho vào bình nón, thêm chính xác 20 ml dung dịch axit formic 5% trong methanol 50%. Chiết xuất bằng phương pháp siêu âm trong 40 phút, rút dịch chiết, lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.

- Dung dịch chuẩn CGA: Cân chính xác khoảng 11,7 mg chất chuẩn CGA, chuyển vào bình định mức 50 ml, định mức đến vạch mức bằng methanol 50%, thu được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 234 µg/ml. Từ dung dịch này tiến hành pha loãng bằng methanol 50% theo các tỷ lệ khác nhau để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ nhỏ hơn đem phân tích.

Bước 2: Lựa chọn điều kiện sắc ký

Tham khảo các nghiên cứu về định lượng CGA trong dược liệu bằng phương pháp HPLC [9], các điều kiện tiến hành sắc ký được lựa chọn như sau: Pha tĩnh cột vertical C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), pha động ACN và nước (chứa 0,1% acid phosphoric) tỷ lệ 20:80 tt/tt, tốc độ dòng 0,8 ml/phút, thể tích tiêm mẫu 20 µl, nhiệt độ cột 25°C, detector UV bước sóng 327 nm. Dánh giá về thời gian lưu (t_R), độ phân giải (R_s), và hệ số đối xứng (A_s). $R_s \geq 1,5$; A_s nằm trong khoảng 0,8 – 1,5; trên cơ sở kết quả khảo sát lựa chọn các điều kiện sắc ký thích hợp.

Bước 3: Thẩm định phương pháp định lượng CGA trong thân ngũ gia bì gai

Sau khi lựa chọn được các điều kiện sắc ký, tiến hành thẩm định phương pháp định lượng CGA trong dược liệu thân Ngũ gia bì gai theo hướng dẫn của AOAC [10]. Các tiêu chí cần thẩm định gồm: tính thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng.

Bước 4: Sau khi phương pháp thẩm định đạt yêu cầu, áp dụng quy trình định lượng đã xây dựng để xác định hàm lượng của CGA trong thân ngũ gia bì gai.

Cân 2,015 g bột ngũ gia bì gai chiết siêu âm trong 20 ml dung dịch axit formic 5% trong MeOH 50%. Lọc thu được dịch chiết mẫu thử, đem định lượng 3 lần riêng biệt. Hàm lượng CGA trong mẫu thử được tính toán theo công thức sau:

$$X (\%) = \frac{C.20.P.100}{1000000.m.(100-b)} .100 \quad (1)$$

Trong đó: X: Hàm lượng CGA trong mẫu thử (%)

C: Nồng độ CGA tính từ đường chuẩn ($\mu\text{g/ml}$)

P: Độ tinh khiết của mẫu chuẩn (98 %)

m: Khối lượng dược liệu (g)

b: Độ ẩm dược liệu (9,53%)

V tiêm mẫu = 20 μl

Các kết quả được xử lý thông kê bằng công cụ Microsoft Excel 2019.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát thông số sắc ký

Chuẩn bị dung dịch chuẩn CGA theo phương pháp đã lựa chọn, thu được nồng độ khoảng 234 $\mu\text{g/ml}$. Từ dung dịch này pha loãng bằng methanol 50% theo các tỷ lệ khác nhau để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ 18,7; 37,4; 55,1; 74,8; 93,6 $\mu\text{g/ml}$ đem phân tích và tiến hành sắc ký ở điều kiện đã lựa chọn. Đồng thời chuẩn bị dung dịch thử. Kết quả khảo sát điều kiện sắc ký được trình bày dưới Bảng 1.

Bảng 1. Các thông số đánh giá đối với CGA

STT	Thông số đánh giá	Giá trị	Đơn vị
1	Thời gian lưu (t_R)	5,601	Phút
2	Diện tích pic (ứng với dung dịch chuẩn nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$)	29048	mAU.s
3	Độ phân giải (R_s)	1,562	
4	Hệ số kéo đuôi pic (A_s)	1,28	

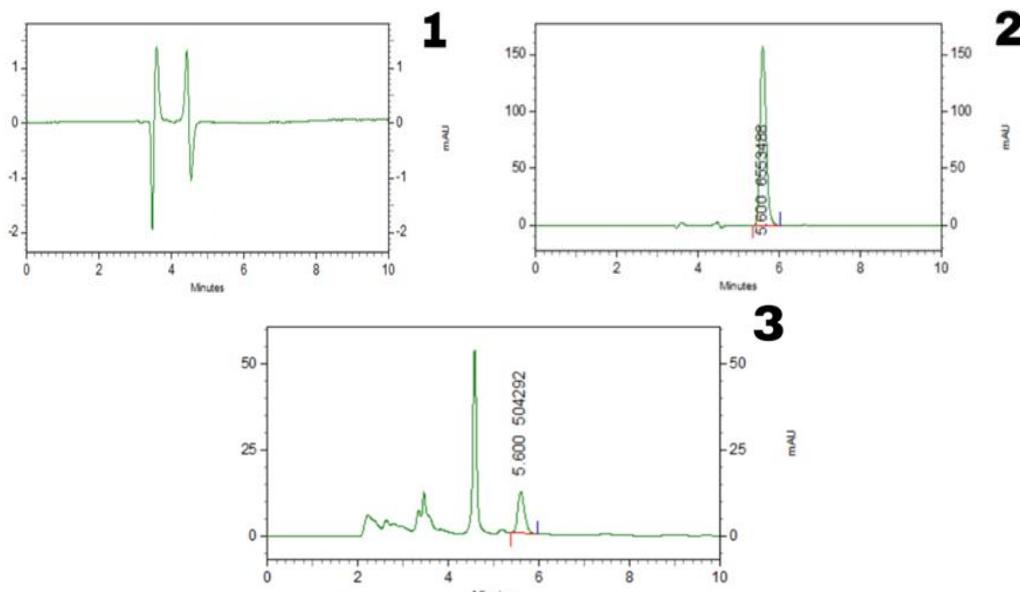
Nhận xét: Độ phân giải $R_s = 1,562 > 1,5$; hệ số kéo đuôi pic $A_s = 1,28$ (thuộc khoảng 0,8 - 1,5); cả hai đều đạt yêu cầu nên điều kiện phân tích HPLC này là phù hợp để phân tích CGA có trong dược liệu thân ngũ gia bì gai. Trong nghiên cứu này, thời gian lưu của pic CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai là 5,601 phút, ngắn hơn so với thời gian lưu của pic CGA trong dược liệu Ké đầu ngựa [9], Ngũ gia bì chân chim [11]. Như vậy, điều kiện sắc ký đảm bảo khả năng tách CGA ra khỏi nền mẫu và thu được pic có tính đối xứng nhất, tiết kiệm thời gian và dung môi.

3.2. Thẩm định phương pháp định lượng

Độ đặc hiệu: Tiến hành phân tích 03 mẫu với điều kiện sắc ký đã lựa chọn: dung dịch CGA chuẩn, dung dịch mẫu thử, dung dịch mẫu trắng (methanol 50%), thu được kết quả đánh giá bằng các sắc ký đồ tương ứng như Hình 1.

Nhận xét: Trên sắc ký đồ cho thấy thời gian lưu của CGA trên mẫu chuẩn và mẫu thử là tương đương nhau, pic CGA không bị trùng với các pic khác; đồng thời trên mẫu trắng không có pic nào trùng với pic CGA ở mẫu chuẩn và mẫu thử, chứng tỏ phương pháp và hệ thống sắc ký có độ đặc hiệu cao.

Tính phù hợp hệ thống: Kết quả được đánh giá thông qua giá trị RSD (%) của diện tích pic và thời gian lưu sau 6 lần phân tích lặp lại cùng một mẫu chuẩn CGA. Kết quả được trình bày trong Bảng 2.

**Hình 1.** Sắc ký đồ của mẫu trắng (1), mẫu chuẩn (2), mẫu thử (3)**Bảng 2.** Kết quả đánh giá tính phù hợp hệ thống

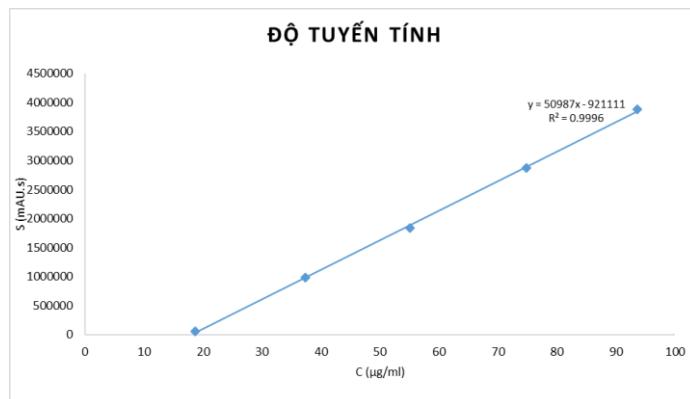
STT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak (mAU.s)
1	5,6	6926512
2	5,671	6733932
3	5,533	6926417
4	5,582	6898911
5	5,599	6796443
6	5,566	7089090
TB	5,592	6895217,5
SD	0,05	122737,4
RSD %	0,82	1,78

Nhận xét: Độ lệch chuẩn tương đối RSD của diện tích pic và thời gian lưu đều nhỏ hơn 2%, từ đó có thể kết luận rằng các điều kiện sắc ký đã lựa chọn và hệ thống HPLC sử dụng là phù hợp và đảm bảo độ ổn định của phép phân tích định lượng CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai.

Xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn: Chuẩn bị một dãy gồm dung dịch CGA chuẩn có nồng độ tăng dần: 18,7; 37,4; 55,1; 74,8; 93,6 µg/ml, sau đó tiến hành phân tích HPLC với các điều kiện đã chọn. Kết quả khảo sát sự tương quan giữa diện tích pic và nồng độ CGA được trình bày trong Bảng 3 và Hình 2.

Bảng 3. Quan hệ tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic CGA

Nồng độ (µg/ml)	Diện tích pic (mAU.s)	Nồng độ tính lại từ đường chuẩn (µg/ml)	Độ chêch (%)
18,7	56939	19,18	2,58
37,4	988276	36,65	-1,99
55,1	1843634	53,79	-2,38
74,8	2878911	74,52	-0,37
93,6	3882764	94,63	1,1
Phương trình tuyến tính		$y = 50987x - 921111$	
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9996$	

**Hình 2.** Đường biểu diễn mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ CGA và diện tích pic

Nhận xét: Đường chuẩn được đánh giá thông qua hệ số tương quan R^2 và độ chêch của nồng độ tìm lại được từ đường chuẩn so với nồng độ thực. Kết quả đánh giá đường chuẩn được trình bày trong Bảng 3 cho thấy độ chêch lệch tại các nồng độ đều nằm trong giới hạn cho phép ($<15\%$). $R^2 = 0,9996$, nằm trong khoảng $0,99 - 1$, đường chuẩn được xây dựng có độ tuyến tính đảm bảo để thực hiện phép phân tích định lượng CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai.

Độ lặp lại: Cân chính xác khoảng 1 g dược liệu, xử lý mẫu và định lượng riêng biệt 6 lần trên cùng một mẫu dược liệu thu được kết quả như Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ lặp lại

Lần	1	2	3	4	5	6
KL dược liệu (g)	1,001	1,015	1,008	1,006	1	1
Hàm lượng CGA (%)	0,0583	0,0576	0,0579	0,0585	0,06	0,0597
Hàm lượng TB (%)			0,0588			
SD			9,7 x 10 ⁻⁵			
RSD %			1,65			

Nhận xét: Hàm lượng trung bình của CGA trong mẫu dược liệu thân ngũ gia bì gai là 0,0588% (tính theo khối lượng dược liệu khô tuyệt đối), với độ lệch chuẩn tương đối $RSD = 1,65\% (< 5,3\%)$ cho thấy phương pháp xây dựng đạt yêu cầu độ lặp lại.

Độ đúng: Kết quả đánh giá độ đúng được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ đúng

Ống	Nồng độ dd chuẩn thêm vào (μg/ml)	Nồng độ GCA tính theo đường chuẩn (μg/ml)	Độ thu hồi (%)	Trung bình (%)
1	0	28,34		
2		46,46	96,91	
3	18,7	47,29	101,35	99,40
4		47,03	99,95	
5		65,14	98,4	
6	37,4	66,50	102,05	100,73
7		66,39	101,75	
8		82,14	97,65	
9	55,1	82,93	99,08	99,49
10		84,39	101,73	

Nhận xét: Độ thu hồi trung bình của phương pháp định lượng CGA trong dược liệu thân Ngũ gia bì gai bằng HPLC khi thêm dung dịch chuẩn nồng độ 18,7 μg/ml là 99,40%, khi thêm dung dịch chuẩn nồng độ 37,4 μg/ml là 100,73%, khi thêm dung dịch chuẩn nồng độ 55,1 μg/ml là 99,49%, đều đạt trong khoảng 90 – 107%, phương pháp đã xây dựng đạt yêu cầu độ đúng.

Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp định lượng được xây dựng đáp ứng các chỉ tiêu về tính đặc hiệu, tính phù hợp hệ thống, tính tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng theo tiêu chuẩn của

AOAC. Như vậy, phương pháp định lượng phù hợp để ứng dụng định lượng CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai.

3.3. Xác định hàm lượng CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai

Sau khi xây dựng phương pháp định lượng và thẩm định phương pháp, tiến hành xác định hàm lượng CGA có trong dược liệu thân ngũ gia bì gai thu hái tại huyện Sìn Hồ, tỉnh Lai Châu. Cân 2,015 g bột dược liệu thân ngũ gia bì gai và xử lý mẫu, mẫu dịch chiết được định lượng bằng HPLC lặp lại 3 lần độc lập thu được kết quả ở Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả định lượng CGA trong dược liệu thân ngũ gia bì gai

Mẫu thử	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAUs)	Nồng độ GCA tính theo đường chuẩn ($\mu\text{g/ml}$)	Hàm lượng CGA (%) trong NGBG	Trung bình hàm lượng (%)
Lần 1	5,570	1370321	44,941	0,0483	
Lần 2	5,577	1123240	40,096	0,0431	0,0443
Lần 3	5,580	1048472	38,629	0,0415	

Kết quả thu được cho thấy hàm lượng CGA trung bình trong dược liệu thân ngũ gia bì gai khoảng 0,0443%. Kết quả cho thấy mẫu dược liệu thân ngũ gia bì gai thu hái tại huyện Sìn Hồ, tỉnh Lai Châu có hàm lượng CGA trung bình là 0,0443%. Ở nghiên cứu của Young-Hyun Kim và cộng sự (2015), % hàm lượng CGA trong Sâm Tây bá lợi Á (*Eleutherococcus senticosus*) như sau: lá có 1,486%; thân có 0,602%; rễ có 0,501% [12]. Kết quả nghiên cứu trên 66 mẫu vỏ rễ Ngũ gia bì Hương (*Eleutherococcus gracilistylus*) của Jianbo Yang và cộng sự [13] cho thấy rằng hàm lượng CGA nằm trong khoảng 0,08272 – 1,4907%. Theo như nghiên cứu của một số tài liệu, hàm lượng CGA tìm thấy trong nụ hoa Kim ngân (*Lonicera japonica*), lá Tía tô đất (*Melissa officinalis*) và hạt Cà phê (*Coffea canephora*) có nồng độ tương ứng là $9,900 \pm 0,004$; $19,88 \pm 0,171$ và $1,233 \pm 0,003$ g/100 g dược liệu khô [14]; hàm lượng CGA trong dược liệu Ké đầu ngựa (*Xanthium strumarium*) thu hái tại Việt Nam nằm trong khoảng từ 0,057 - 0,375% [9].

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng quy trình định lượng CGA trong dược liệu ngũ gia bì gai. Quy trình định lượng đạt yêu cầu thẩm định quy trình phân tích định lượng về độ đặc hiệu, độ đúng, độ tuyến tính, độ lặp lại. Áp dụng quy trình định lượng, nghiên cứu đã xác định hàm lượng CGA trung bình trong dược liệu ngũ gia bì gai thu hái tại huyện Sin Hồ, tỉnh Lai Châu là $0,0443 \pm 0,004\%$. Quy trình định lượng này dễ thực hiện và có thể triển khai áp dụng trong thực tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] P. Sithisarn, S. Muensaen, and S. Jarikasem, "Determination of caffeoyl quinic acids and flavonoids in *Acanthopanax trifoliatus* leaves by HPLC," *Natural Product Communications*, vol. 6, no. 9, p.1934578X1100600920, 2011.
- [2] H. Wang, D. Li, Z. Du, M. T. Huang, X. Cui, Y. Lu, C. Li, S. L. Woo, A. H. Conney, X. Zheng, and K. Zhang, "Antioxidant and anti-inflammatory properties of Chinese ilicifolius vegetable (*Acanthopanax trifoliatus* (L) Merr) and its reference compounds," *Food Science and Biotechnology*, vol. 24, pp.1131-1138, 2015.
- [3] Z. Chen, S. Cheng, H. Lin, W. Wu, L. Liang, X. Chen, X. Zheng, Y. He, and K. Zhang, "Antibacterial, anti-inflammatory, analgesic, and hemostatic activities of *Acanthopanax trifoliatus* (L.) merr," *Food Science & Nutrition*, vol. 9, no.4, pp. 2191-2202, 2021.
- [4] M. Naveed, V. Hejazi, M. Abbas, A. A. Kamboh, G. J. Khan, M. Shumzaid, F. Ahmad, D. Babazadeh, X. FangFang, F. Modarresi-Ghazani, and L. WenHua, "Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 97, pp. 67-74, 2018.
- [5] L. Li, C. Su, X. Chen, Q. Wang, W. Jiao, H. Luo, J. Tang, W. Wang, S. Li, and S. Guo, "Chlorogenic acids in cardiovascular disease: A review of dietary consumption, pharmacology, and pharmacokinetics," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 68, no. 24, pp. 6464-6484, 2020.

- [6] S. Huang, L. L. Wang, N. N. Xue, C. Li, H. H. Guo, T. K. Ren, Y. Zhan, W. B. Li, J. Zhang, X. G. Chen, and Y. X. Han, "Chlorogenic acid effectively treats cancers through induction of cancer cell differentiation," *Theranostics*, vol. 9, no. 23, p. 6745, 2019.
- [7] H. Zhu, W. Jiang, C. Liu, C. Wang, B. Hu, Y. Guo, Y. Cheng, and H. Qian, "Ameliorative effects of chlorogenic acid on alcoholic liver injury in mice via gut microbiota informatics," *European Journal of Pharmacology*, vol. 928, p. 175096, 2022.
- [8] Vietnamese Ministry of Health, *Vietnamese Pharmacopoeia V*, vol. 2, (in Vietnamese), Medical Publishing House, 2017.
- [9] T. H. T. Nguyen, "Determination of chlorogenic acid in the medicinal herb *Fructus Xanthii strumarii* collected in Vietnam by HPLC method," Bachelor's thesis, Vietnam National University, Hanoi, 2020.
- [10] AOAC Official Methods of Analysis, *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*, Appendix F, pp. 1-17, 2016.
- [11] B. D. Vu, "Development of a method for quantifying chlorogenic acid in Schefflera heptaphylla by high-performance liquid chromatography," *Journal of Pharmacy*, vol. 55, no. 4, pp. 46-50, 2015.
- [12] Y. H. Kim, M. L. Cho, D. B. Kim, G. H. Shin, J. H. Lee, J. S. Lee, S. O. Park, S. J. Lee, H. M. Shin, and O. H. Lee, "The antioxidant activity and their major antioxidant compounds from *Acanthopanax senticosus* and *A. koreanum*," *Molecules*, vol. 20, no. 7, pp. 13281-13295, 2015.
- [13] J. Yang, L. Yao, K. Gong, K. Li, L. Sun, and W. Cai, "Identification and Quantification of Chlorogenic Acids from the Root Bark of *Acanthopanax gracilistylus* by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap Mass Spectrometry," *ACS omega*, vol. 7, no. 29, pp. 25675-25685, 2022.
- [14] C. Chaowuttikul, C. Palanuvej, and N. Ruangrungsi, "Quantification of chlorogenic acid, rosmarinic acid, and caffeic acid contents in selected Thai medicinal plants using RP-HPLC-DAD," *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 56, pp. 1-13, 2020.