



**Bài báo nghiên cứu**

**XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ISORHAMNETIN TRONG CAO CHIẾT  
TỪ CÂY LAN KIM TUYẾN (*Anoectochilus roxburghii*)  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÍ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

**Nguyễn Việt Cường<sup>1</sup>, Lê Thành Long<sup>2</sup>, Hoàng Nghĩa Sơn<sup>2</sup>,  
Đỗ Đăng Giáp<sup>2</sup>, Đỗ Đức Thăng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thương Huyền<sup>3</sup>, Đoàn Chính Chung<sup>2,4\*</sup>**

<sup>1</sup>Trường Đại học Lạc Hồng, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>4</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: Đoàn Chính Chung – Email: [doanchinhchung@gmail.com](mailto:doanchinhchung@gmail.com)

Ngày nhận bài: 07-7-2022; ngày nhận bài sửa: 20-7-2022; ngày duyệt đăng: 07-9-2022

**TÓM TẮT**

*Lan Kim Tuyền (Anoectochilus roxburghii) là một dược liệu quý với những tác dụng dược lí đặc biệt đã được chứng minh như chống oxy hóa, kháng viêm, bảo vệ tế bào gan, hạ đường huyết và kháng ung thư. Một quy trình định lượng isorhamnetin trong cao chiết từ cây Lan Kim Tuyền được xây dựng nhằm đánh giá chất lượng nguồn nguyên liệu. Quy trình sử dụng hệ thống sắc kí lỏng hiệu năng cao với cột pha đảo C18, dung môi pha động bao gồm acetonitril và acid phosphoric 0,2% với chế độ đẳng dòng. Nhiệt độ buồng cột 30°C, thể tích tiêm mẫu 10 µl, phát hiện ở bước sóng 370 nm với đầu dò DAD. Quy trình được thẩm định tính đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, độ chính xác, độ đúng và khoảng tuyến tính theo hướng dẫn của ICH.*

**Từ khóa:** Lan Kim Tuyền; HPLC; isorhamnetin

**1. Giới thiệu**

Cây Lan Kim Tuyền là một trong những cây dược liệu quý tại Việt Nam và trên thế giới do tác dụng dược lí đa dạng và giá trị kinh tế cao. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy một lượng lớn các nhóm hợp chất flavonoid, polysaccharides, glycosides và alkaloids được tìm thấy trong Lan Kim Tuyền (Guo et al., 2019; He, Wang, Guo, Yang, & Xiao, 2005; Wu et al., 2020). Trong số các loài Lan Kim Tuyền, loài *Anoectochilus formosanus* và *Anoectochilus roxburghii* là hai loài phổ biến nhất được sử dụng trong Y học cổ truyền ở Việt Nam, Đài Loan, Trung Quốc và Ấn Độ. Tác dụng dược lí của cây Lan Kim Tuyền bao gồm các hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm, tác dụng bảo vệ gan (Lin, Huang, & Lin, 2000; Wang et al., 2002), giảm đường huyết (Cui et al., 2013) và hoạt tính kháng ung

---

**Cite this article as:** Nguyen Viet Cuong, Le Thanh Long, Hoang Nghia Son, Do Dang Giap, Do Duc Thang, Nguyen Thi Thuong Huyen, & Doan Chinh Chung (2022). Establishment of a high-performance liquid chromatography method for quantification of isorhamnetin in extract of *Anoectochilus roxburghii*. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 19(9), 1453-1460.

thur (Shyur et al., 2004; Yang, Hsieh, Lu, & Lin, 2014). Isorhamnetin, một hoạt chất được tìm thấy trong cây Lan Kim Tuyền (Le, Bui, Ha, Ngo, & Le, 2019), được chứng minh có tác dụng chống ung thư mạnh trong các nghiên cứu *in vitro* trên các dòng tế bào ung thư khác nhau (Kim et al., 2011; Li, C., Yang, Chen, Cai, & Hu, 2014; Li, Q. et al., 2015). Để đánh giá chất lượng dược liệu Lan Kim Tuyền cũng như xác định hàm lượng hoạt chất isorhamnetin, nhóm nghiên cứu tiến hành xây dựng quy trình định lượng hoạt chất này trong cao chiết Lan Kim Tuyền bằng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao.

**2. Vật liệu và phương pháp**

**2.1. Nguyên liệu**

Mẫu cây Lan Kim Tuyền được cung cấp bởi PTN trọng điểm phía Nam về Công nghệ tế bào thực vật, Viện Sinh học Nhiệt đới. Mẫu được tiến hành định danh thực vật học bởi Đặng Văn Sơn, Viện Sinh học Nhiệt đới. Mẫu định danh (ITB-2019-001) được lưu giữ tại Viện Sinh học Nhiệt đới. Ngoài ra, mẫu cũng được định danh phân tử DNA dựa trên việc giải trình tự vùng gene *matK* và *ITS*, đồng thời so sánh kết quả giải trình tự DNA vùng gen *matK* và *ITS* trên NCBI (Bảng 1). Kết quả giải trình tự và định danh mẫu Lan Kim Tuyền thu thập là *Anoectochilus roxburghii*. Mẫu toàn cây Lan Kim Tuyền (Hình 1) được rửa sạch, sấy khô và tạo bột dược liệu. Mẫu bột dược liệu được chiết xuất bằng phương pháp ngâm trong dung môi ethanol ở nhiệt độ phòng (27-28°C) trong 24-48 giờ.

**Bảng 1.** Mẫu cây Lan Kim Tuyền (mẫu N) được định danh về phân tử DNA dựa trên vùng gen *matK* và *ITS* (B)

Mẫu	Gene	Accession	Query Cover (%)	Per. Ident (%)
N	<i>matK</i>	<a href="#">MK451794.1</a>	100	100
	<i>ITS</i>	<a href="#">KR815828.1</a>	92	99,58



**Hình 1.** Mẫu cây Lan Kim Tuyền (mẫu N) được định danh về mặt thực vật học

**2.2. Dung môi hóa chất**

Chất chuẩn: isorhamnetin hay 3'-O-methyl quercetin (TRC, Canada) với độ tinh khiết đạt 100% theo thông tin nhà sản xuất.

Dung môi sử dụng đạt tiêu chuẩn sử dụng cho HPLC: acetonitril, methanol (Merck, Hoa Kỳ), acid orthophosphoric (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ).

### 2.3. *Thiết bị và dụng cụ nghiên cứu*

Hệ thống sắc kí lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 Quaternary pump G1311, Standard Autosampler G1329, Diode Array and Multiple Wavelength Detector G1315. Cột phân tích Phenomenex Gemini C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm). Cân phân tích Sartorius Praxium 224-1S độ chính xác ± 0,1 mg. Bể siêu âm Elma S180H. Bình định mức, pipet và các dụng cụ thủy tinh có độ chính xác phù hợp.

### 2.4. *Phương pháp nghiên cứu*

**Điều kiện sắc kí:** cột sắc kí pha đảo Phenomenex Gemini C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), nhiệt độ buồng cột 30°C, thể tích tiêm mẫu 10 µl, detector UV-Vis phát hiện ở bước sóng 370 nm. Pha động acetonitril – acid phosphoric 0,2 % (30:70), tốc độ dòng 1 ml/phút.

**Chuẩn bị mẫu chuẩn:** Cân chính xác 10 mg isorhamnetin chuẩn, hòa tan trong bình định mức 50 ml với methanol. Lấy chính xác 1 ml dung dịch thu được, pha loãng trong bình định mức 20 ml với dung môi pha động. Lọc dung dịch qua màng lọc 0,45 µm.

**Chuẩn bị mẫu thử:** Cân chính xác 100 mg cao chiết từ Lan Kim Tuyền cho vào bình định mức 25 ml. Thêm 20 ml methanol, tiến hành làm sạch bằng siêu âm trong 10 phút. Để nguội, thêm methanol đến vạch, lắc đều. Lọc dung dịch qua màng lọc 0,45 µm.

Hàm lượng (%) isorhamnetin trong cao được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{S_t}{S_c} \times \frac{m_c \times C\%}{D_c} \times \frac{D_t \times 100}{m_t \times (1 - H\%)}$$

Trong đó:

X: hàm lượng (%) isorhamnetin có trong cao;

S<sub>t</sub>: diện tích pic của isorhamnetin trong dung dịch thử;

S<sub>c</sub>: diện tích pic của isorhamnetin trong dung dịch chuẩn;

D<sub>t</sub>: độ pha loãng mẫu thử;

D<sub>c</sub>: độ pha loãng mẫu chuẩn;

C%: hàm lượng chất chuẩn isorhamnetin (%);

m<sub>c</sub>: khối lượng chuẩn (mg);

m<sub>t</sub>: khối lượng mẫu thử (mg);

H: độ ẩm của cao chiết (%).

**Thẩm định quy trình phân tích:** Quy trình phân tích vừa xây dựng được thẩm định tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, độ đúng, độ chính xác (độ lặp lại, độ chính xác trung gian) và khoảng tuyến tính theo hướng dẫn của ICH (European Medicines Agency, 2005).

**Tính tương thích hệ thống:** Tiến hành sắc kí 6 lần liên tiếp mẫu chuẩn ở mức 100% so với nồng độ khảo sát theo điều kiện đã chọn.

**Độ đặc hiệu:** Tiến hành so sánh biểu đồ sắc kí của chuẩn isorhamnetin và mẫu thử.

**Khoảng tuyến tính:** Chuẩn bị các dung dịch isorhamnetin chuẩn có nồng độ tương ứng. 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 250% so với nồng độ khảo sát.

*Độ lặp lại:* tiến hành sắc kí 6 mẫu thử được chuẩn bị theo quy trình định lượng.

*Độ chính xác trung gian:* Tiến hành sắc kí 6 mẫu thử khác được tiến hành bởi một người thực hiện khác ở một ngày khác.

*Độ đúng:* Tiến hành sắc kí các mẫu thử thêm chuẩn ở các mức nồng độ 75%, 100% và 125%, mỗi nồng độ thực hiện ba mẫu riêng biệt.

### 3. Kết quả nghiên cứu

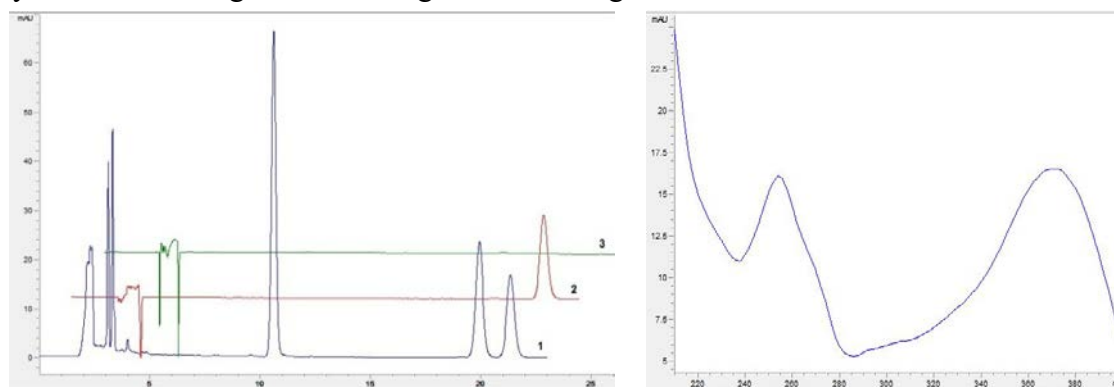
*Tính tương thích hệ thống:* Kết quả đánh giá tính tương thích hệ thống qua các chỉ tiêu như thời gian lưu, diện tích pic và một số thông số sắc kí được trình bày trong Bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả thẩm định tính tương thích hệ thống

STT	t <sub>R</sub> (phút)	S <sub>pic</sub> (μAU.s)	Hệ số đối xứng	Số đĩa lí thuyết
1	21,385	417,825	0,977	18177
2	21,382	415,629	0,978	17985
3	21,380	417,119	0,977	18206
4	21,389	417,345	0,976	17996
5	21,385	416,663	0,972	18021
6	21,387	419,224	0,977	17896
TB	<b>21,385</b>	<b>417,301</b>		
SD	<b>0,0033</b>	<b>1,2008</b>		
RSD%	<b>0,015</b>	<b>0,288</b>		

t<sub>R</sub>: Thời gian lưu, S<sub>pic</sub>: Diện tích của các pic

Kết quả thẩm định cho thấy thời gian lưu và diện tích pic của isorhamnetin ở 6 lần sắc kí khác nhau có RSD < 2% và có hệ số đối xứng cũng như số đĩa lí thuyết đạt yêu cầu. Vậy quy trình định lượng đạt tính tương thích hệ thống.



**Hình 2.** Sắc kí đồ mẫu thử (1), mẫu chuẩn (2), mẫu dung môi (3) và phổ UV của isorhamnetin

**Bảng 3.** Thông số sắc kí của mẫu chuẩn và mẫu thử

STT	Mẫu	t <sub>R</sub> (phút)	Diện tích pic (mAU*s)	Độ tinh sạch	Giới hạn ngưỡng	N	As
1	Mẫu chuẩn	21,385	417,825	999.903	999.647	18177	0,977
2	Mẫu thử	21,342	412,706	999.906	999.758	17473	0,992

**Độ đặc hiệu:** Kết quả cho thấy sắc kí đồ của mẫu chuẩn isorhamnetin và mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự nhau (Hình 2). Phổ UV của pic trong mẫu isorhamnetin chuẩn và mẫu thử có hình dạng và các đỉnh hấp thụ cực đại tương tự nhau. Sắc kí đồ của mẫu dung môi không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với pic chuẩn. Độ tinh khiết của pic isorhamnetin trong sắc kí đồ mẫu chuẩn và mẫu thử đạt yêu cầu (Bảng 3). Như vậy, quy trình có tính đặc hiệu.

**Khoảng tuyến tính:** Tiến hành sắc kí các mẫu chuẩn đã chuẩn bị với các nồng độ khác nhau. Kết quả thẩm định được đánh giá thông qua việc xác định diện tích các pic đạt được tương ứng (Bảng 4).

**Bảng 4. Kết quả thẩm định khoảng tuyến tính**

STT	Nồng độ isorhamnetin chuẩn (mcg/ml)	Diện tích pic (µAU.s)
1	2,6	104,091
2	5,2	207,525
3	7,8	313,098
4	10,4	416,027
5	13	522,324
6	26	1040,068

Sử dụng trắc nghiệm thống kê F cho thấy có sự tương quan chặt chẽ giữa nồng độ chuẩn và diện tích pic thu được trên sắc kí đồ với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9999$ . Trắc nghiệm t cho thấy hệ số tự do trong phương trình hồi quy không có ý nghĩa thống kê ( $\alpha = 0,01$ ). Vậy phương trình hồi quy tuyến tính  $y = 40,01353x$ .

**Độ lặp lại:** Tiến hành sắc kí sáu mẫu thử được chuẩn bị theo quy trình định lượng thu được kết quả theo Bảng 5.

**Bảng 5. Kết quả thẩm định độ lặp lại**

STT	Khối lượng cân mẫu thử (mg)	Diện tích pic (µAU.s)	Hàm lượng isorhamnetin (%)
1	97,6	412,706	0,272
2	100,2	414,066	0,266
3	99,8	413,389	0,266
4	98,9	413,658	0,269
5	100,1	411,781	0,265
6	99,2	412,636	0,267
	Trung bình		<b>0,267</b>
	SD		<b>0,003</b>
	RSD%		<b>0,987</b>

Kết quả cho thấy RSD% của giá trị hàm lượng isorhamnetin khi tiến hành sắc kí 6 mẫu thử riêng biệt nhỏ hơn 2%. Quy trình định lượng đạt yêu cầu về độ lặp lại.

**Độ chính xác trung gian:** Kết quả độ chính xác trung gian được trình bày ở Bảng 6.

**Bảng 6. Kết quả thẩm định độ chính xác trung gian**

STT	Khối lượng cân mẫu thử (mg)	Diện tích pic ( $\mu$ AU.s)	Hàm lượng isorhamnetine trong cao (%)	Khối lượng cân mẫu thử (mg)	Diện tích pic ( $\mu$ AU.s)	Hàm lượng isorhamnetine trong cao (%)
1	97,6	412,706	0,272	98,5	413,680	0,270
2	100,2	414,066	0,266	99,7	410,983	0,265
3	99,8	413,389	0,266	100,5	414,661	0,265
4	98,9	413,658	0,269	100,3	414,560	0,266
5	100,1	411,781	0,265	100,1	414,952	0,267
6	99,2	412,636	0,267	99,8	412,645	0,266
Trung bình: <b>0,267%</b>			Trung bình: <b>0,266%</b>			
SD: <b>0,003</b>			SD: <b>0,002</b>			
RSD: <b>0,987%</b>			RSD: <b>0,693%</b>			
Kết quả của cả hai kiểm nghiệm viên						
Trung bình: <b>0,267%</b>						
RSD: <b>0,839%</b>						

Trắc nghiệm thống kê cho thấy kết quả hàm lượng các chất thu được ở hai lần thực hiện khác nhau không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Quy trình định lượng đạt yêu cầu độ chính xác trung gian.

**Bảng 7. Kết quả thẩm định độ đúng**

STT	Nồng độ chuẩn thêm vào	Lượng chuẩn thêm vào (mcg/ml)	Diện tích pic ( $\mu$ AU.s)	Lượng chuẩn tìm thấy (mcg/ml)	Tỷ lệ hồi phục (%)
1		7,5	714,525	7,489	99,85
2	75%	7,5	717,678	7,568	100,90
3		7,5	718,662	7,592	101,23
				Trung bình	<b>100,66</b>
				SD	<b>0,718</b>
				RSD%	<b>0,713</b>
4		10	818,159	10,072	100,72
5	100%	10	815,938	10,017	100,17
6		10	814,643	9,984	99,84
				Trung bình	<b>100,24</b>
				SD	<b>0,443</b>
				RSD%	<b>0,442</b>
7		12,5	921,510	12,648	101,18
8	125%	12,5	920,102	12,612	100,90
9		12,5	918,991	12,585	100,68
				Trung bình	<b>100,92</b>
				SD	<b>0,252</b>
				RSD%	<b>0,249</b>

**Độ đúng:** Hàm lượng isorhamnetin trong mẫu cao đạt khoảng 0,27% và lượng cân mẫu thử ít (cân chính xác 100 mg cao). Do vậy, để đảm bảo sự chính xác trong quá trình chuẩn bị mẫu thử thêm chuẩn, nghiên cứu thêm chuẩn dưới dạng dung dịch với một thể tích xác định từ một nồng độ cố định (đơn vị tính mcg/ml). Kết quả độ đúng được thể hiện theo

Bảng 7. Kết quả cho thấy tỉ lệ hồi phục của 9 mẫu đều nằm trong khoảng 98-102% và RSD nhỏ hơn 2%. Quy trình định lượng đạt yêu cầu độ đúng.

Qua kết quả thực nghiệm cho thấy quy trình đã xây dựng đạt các yêu cầu thẩm định như tính đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ chính xác, độ đúng. Quy trình đủ điều kiện để ứng dụng vào đánh giá chất lượng nguyên liệu cao chiết Lan Kim Tuyền cho các nghiên cứu tiếp theo.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu này đã xây dựng được quy trình định lượng isorhamnetin trong cao chiết Lan Kim Tuyền. Quy trình được thẩm định theo hướng dẫn của ICH về tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ lặp lại, độ chính xác trung gian và độ đúng cho kết quả phù hợp với yêu cầu.

- ❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.
- ❖ **Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài hợp tác giữa Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST), mã số: UDNGDP.02/20-21 và Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Gia Lai, mã số: KHGL-05-19.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cui, S. C., Yu, J., Zhang, X. H., Cheng, M. Z., Yang, L. W., & Xu, J. Y. (2013). Antihyperglycemic and antioxidant activity of water extract from *Anoectochilus roxburghii* in experimental diabetes. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65(5), 485-488. doi: 10.1016/j.etp.2012.02.003
- European Medicines Agency. (2005). *ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures*. Text and Methodology, International Conference on Harmonization.
- Guo, Y., Ye, Q., Yang, S., Wu, J., Ye, B., Wu, Y., . . . Zheng, C. (2019). Therapeutic effects of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* on type II collagen-induced arthritis in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 882-892. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.015
- He, C. N., Wang, C. L., Guo, S. X., Yang, J. S., & Xiao, P. G. (2005). [Study on chemical constituents in herbs of *Anoectochilus roxburghii* II]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 30(10), 761-763.
- Kim, J. E., Lee, D. E., Lee, K. W., Son, J. E., Seo, S. K., Li, J., . . . Lee, H. J. (2011). Isorhamnetin suppresses skin cancer through direct inhibition of MEK1 and PI3-K. *Cancer Prevention Research*, 4(4), 582-591. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0032
- Le, D.C., Bui, B.T., Ha, T.T.H., Ngo, T.K., & Le, Q.H. (2019). Quantification of quercetin, isorhamnetin and ferulic acid in dry extract of *Anoectochilus setaceus* Blume from Vietnam. *International Journal of Botany Studies*, 4(5), 14-18.
- Li, C., Yang, X., Chen, C., Cai, S., & Hu, J. (2014). Isorhamnetin suppresses colon cancer cell growth through the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Molecular Medicine Reports*, 9(3), 935-940. doi: 10.3892/mmr.2014.1886

- Li, Q., Ren, F. Q., Yang, C. L., Zhou, L. M., Liu, Y. Y., Xiao, J., . . . Wang, Z. G. (2015). Anti-proliferation effects of isorhamnetin on lung cancer cells in vitro and in vivo. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(7), 3035-3042. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.7.3035
- Lin, C. C., Huang, P. C., & Lin, J. M. (2000). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Anoectochilus formosanus* and *Gynostemma pentaphyllum*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 28(1), 87-96. doi: 10.1142/S0192415X00000118
- Shyur, L. F., Chen, C. H., Lo, C. P., Wang, S. Y., Kang, P. L., Sun, S. J., . . . Yang, N. S. (2004). Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoectochilus formosanus*. *Journal of Biomedical Science*, 11(6), 928-939. doi: 10.1159/000081840
- Wang, S. Y., Kuo, Y. H., Chang, H. N., Kang, P. L., Tsay, H. S., Lin, K. F., . . . Shyur, L. F. (2002). Profiling and characterization antioxidant activities in *Anoectochilus formosanus* hayata. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1859-1865. doi: 10.1021/jf0113575
- Wu, Y. B., Peng, M. C., Zhang, C., Wu, J. G., Ye, B. Z., Yi, J., . . . Zheng, C. J. (2020). Quantitative determination of multi-class bioactive constituents for quality assessment of ten *Anoectochilus*, four *Goodyera* and one *Ludisia* species in China. *Chinese Herbal Medicines*, 12(4), 430-439.
- Yang, L. C., Hsieh, C. C., Lu, T. J., & Lin, W. C. (2014). Structurally characterized arabinogalactan from *Anoectochilus formosanus* as an immuno-modulator against CT26 colon cancer in BALB/c mice. *Phytomedicine*, 21(5), 647-655. doi: 10.1016/j.phymed.2013.10.032

**ESTABLISHMENT OF A HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY  
METHOD FOR QUANTIFICATION OF ISORHAMNETIN IN EXTRACT  
OF ANOECTOCHILUS ROXBURGHII**

**Nguyen Viet Cuong<sup>1</sup>, Le Thanh Long<sup>2</sup>, Hoang Nghia Son<sup>2</sup>,  
Do Dang Giap<sup>2</sup>, Do Duc Thang<sup>2</sup>, Nguyen Thi Thuong Huyen<sup>3</sup>, Doan Chinh Chung<sup>2,4\*</sup>**

<sup>1</sup>Lac Hong University, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Tropical Biology, VAST, Vietnam

<sup>3</sup>Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam

<sup>4</sup>Graduate University of Science and Technology, VAST, Vietnam

\*Corresponding author: Doan Chinh Chung – Email: doanchinhchung@gmail.com

Received: July 07, 2022; Revised: July 20, 2022; Accepted: September 07, 2022

**ABSTRACT**

*Anoectochilus roxburghii* is a precious medicinal plant in Vietnam thanks to its pharmacological effects such as antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective effects, antidiabetic, and especially anti-cancer activity. A process for quantifying isorhamnetin, an important active component, was established by high-performance liquid chromatography. The analysis was performed using a C18 column on the HPLC-DAD system with an isocratic mobile phase of acetonitrile and phosphoric acid 0,2%. The column temperature was 30°C, injection volume - 10 µl, and detector DAD - 370 nm. The method was validated in terms of specificity, system suitability, precision, accuracy, and linear range

**Keywords:** *Anoectochilus roxburghii*; HPLC; isorhamnetin