

Phân lập và thiết lập chất chuẩn đối chiếu Resveratrol, Isorhapotigenin từ thân dây gấm (*Gnetum montanum* markgr)

Đỗ Văn Nhật Trường, Nguyễn Xuân Hải, Lê Hữu Thọ, Nguyễn Trung Nhân, Tôn Thất Quang, Nguyễn Thị Thanh Mai*



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Cây Dây gấm, có tên khoa học là *Gnetum montanum*, thuộc họ Dây gấm (Gnetaceae). Qua các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy rằng các hợp chất stilbene chiếm thành phần chính trong loài cây này. Đặc biệt, resveratrol và isorhapotigenin là hai hợp chất quan trọng, chiếm khoảng 3-5% trong mẫu cao ethanol. Cả hai hợp chất này đều có nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý như kháng viêm, kháng ung thư, chống oxy hóa, ức chế enzyme tyrosinase, Cytochrom P450 và enzyme α -glucosidase. Resveratrol và isorhapotigenin là hai hợp chất cần thiết để kiểm tra và đánh giá chất lượng của thân Dây gấm cũng như các dược liệu thuộc họ Dây gấm. Nghiên cứu này đã thiết lập được chất chuẩn đối chiếu cho resveratrol và isorhapotigenin, được phân lập từ thân Dây gấm. Kết quả cho thấy, độ tinh khiết của resveratrol đạt 99,14% và của isorhapotigenin đạt 96,38%. Quy trình xác định độ tinh khiết của resveratrol và isorhapotigenin trong thân Dây gấm đã được thẩm định thành công bằng hệ thống HPLC-DAD Agilent 1260 với pha động sử dụng trong quá trình này là gradient ACN và TFA 0,5% trong dung môi nước, các nội dung thẩm định quy trình phân tích bao gồm tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ lặp lại và độ đúng, tất cả đều tuân theo hướng dẫn của ICH. Việc thiết lập các chất chuẩn đối chiếu này rất quan trọng để đảm bảo tính nhất quán và độ tin cậy trong quá trình kiểm soát chất lượng của Dây gấm và các sản phẩm dược liệu liên quan. Nhờ có các chất chuẩn tinh khiết cao, các nhà nghiên cứu và nhà sản xuất có thể đo lường và xác minh chính xác sự hiện diện và nồng độ của resveratrol và isorhapotigenin trong các mẫu khác nhau. Điều này góp phần nâng cao hiệu quả và an toàn của các loại thuốc thảo dược được chiết xuất từ Dây gấm.

Từ khoá: cây Dây gấm, họ Dây gấm, HPLC, resveratrol, isorhapotigenin

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Liên hệ

Nguyễn Thị Thanh Mai, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Email: nttmai@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 27-5-2024
- Ngày sửa đổi: 20-2-2025
- Ngày chấp nhận: 18-3-2025
- Ngày đăng:

DOI:



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Dây gấm hay còn gọi là Vương tôn, Dây sót, Gấm núi, Dây mấu, có tên khoa học là *Gnetum montanum* Markgr, là một loài thực vật hạt trần trong họ Dây gấm (Gnetaceae)¹. Cây Dây gấm thường phân bố ở phía đông Himalaya (Nepal, Sikkin, Bhutan), Tây Bengal, Asam, Myanmar, miền nam Trung Quốc và Đông Nam Á. Ở Việt Nam, cây mọc hoang tại các vùng núi như Sapa, Hà Giang, Tuyên Quang, Hà Tây. Theo y học cổ truyền, dược liệu Dây gấm có tác dụng sát trùng, trừ thấp, giải độc, tiêu viêm, hoạt huyết và khu phong. Dược liệu được sử dụng trong các bài thuốc trị sốt rét, ngộ độc, đau nhức xương khớp, bị sơn ăn và chứng phong thấp^{1,2}. Đến nay, các nghiên cứu trên thế giới đã công bố cây có chứa phần lớn các hợp chất stilbene, lignan, alkaloid, steroid và triterpenoid²⁻⁹. Với những hợp chất đầy tiềm năng, những nghiên cứu về dược liệu này cho thấy các hoạt tính nổi bật như hoạt tính kháng oxy hóa, hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính ức chế enzyme -amylase và -glucosidase và hoạt tính kháng ung thư^{10,11}.

Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy thành phần chính trong thân Dây gấm là các hợp chất stilbene, trong đó 2 hợp chất resveratrol và isorhapotigenin chiếm khoảng 3-5% trong mẫu cao ethanol²⁻⁹. Có rất nhiều bài báo khoa học công bố về các nguồn nguyên liệu có chứa resveratrol và isorhapotigenin từ các thực vật thuộc họ Dây gấm (Gnetaceae), Nho (Vitaceae), Dầu (Dipterocarpaceae), Đậu (Fabaceae), Lan (Orchidaceae)...¹². Cả 2 hợp chất này đều có nhiều hoạt tính sinh học quan trọng như kháng viêm, kháng ung thư, chống oxy hóa, ức chế enzyme tyrosinase, Cytochrom P450, enzyme α -glucosidase...¹³⁻¹⁶. Từ các tài liệu tham khảo trên, nhận thấy rằng Dây gấm là một loại dược liệu tiềm năng có rất nhiều hoạt tính sinh học quý giá cần được nghiên cứu phát triển thành các sản phẩm hỗ trợ sức khỏe. Nhưng hiện nay, ở nước ta các nghiên cứu về dược liệu Dây gấm vẫn còn hạn chế, chưa có công bố hoặc tiêu chuẩn nào về kiểm nghiệm dược liệu này. Do đó, để làm tiền đề cho việc kiểm nghiệm và đánh giá chất lượng dược liệu Dây gấm,

Trích dẫn bài báo này: Trường D V N, Hải N X, Thọ L H, Nhân N T, Quang T T, Mai N T T. **Phân lập và thiết lập chất chuẩn đối chiếu Resveratrol, Isorhapotigenin từ thân dây gấm (*Gnetum montanum* markgr).** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2025; (1):1-11.

2 hợp chất resveratrol và isorhapotigenin là hợp chất cần thiết để xây dựng thành chất đối chiếu, chủ động được nguồn chất chuẩn sử dụng trong phân tích, khắc phục được những hạn chế trong việc tìm chất chuẩn sử dụng trong phân tích định lượng các hợp chất hữu cơ. Do đó, trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện phân lập và thiết lập chất chuẩn đối chiếu resveratrol, isorhapotigenin từ thân Dây gấm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hóa chất và thiết bị

Thân Dây gấm được thu hoạch từ huyện Lương Sơn, tỉnh Tuyên Quang. Cây Dây gấm được định danh bởi TS. Bùi Thanh Hà, Khoa Y học cổ truyền, Bệnh viện Quân Y 103, Học viện Quân y. Mẫu thân Dây gấm khô được lưu trữ tại Bộ môn Hóa Dược, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM với mã lưu trữ MCE0065 trong điều kiện nhiệt độ 15-25 °C. Thân Dây gấm (6,5 kg) khi được thu hái được phơi khô và cắt nhỏ với kích thước 5 mm, có độ ẩm 7,1%.

Máy đo điểm nóng chảy IA 9300 (Electrothermal, Anh), máy phổ hồng ngoại FT/IR – 6600 (Jasco, Nhật Bản), máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Avance 500-phòng thí nghiệm Phân tích Trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên ĐHQG-HCM, HR-ESI-MS (Waters, Mỹ) Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh. Hệ thống HPLC-DAD Agilent 1260, cột sắc ký pha đảo Eclipse Plus XDB-C18 (150 x 4,6 mm, 5 μ m), dung môi CD₃COCD₃ của hãng Scharlau, các loại dung môi tinh khiết phân tích *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), acetone, methanol (MeOH), ethanol (EtOH), acetonitril (ACN) của hãng Scharlau, acid trifluoroacetic (TFA, Scharlau, 99%).

Chiết xuất và phân lập chất đối chiếu

Từ 6,5 kg mẫu khô, xay nhỏ rồi tiến hành chiết Soxhlet lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần từ *n*-hexane, EtOAc và MeOH, cô quay áp suất thấp các dịch trích thu được các cao *n*-hexane (24,5 g), EtOAc (150 g) và MeOH (585 g). Cao EtOAc (150 g) được tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi giải ly CHCl₃:MeOH với độ phân cực tăng dần từ 0-100% MeOH. Dung dịch ra khỏi cột sắc ký được hứng bằng erlene 500 mL và cô quay áp suất thấp thu hồi dung môi. Các mẫu ra khỏi cột được tiến hành sắc ký lớp mỏng, hiện vết dưới đèn UV 254 nm và thuốc thử H₂SO₄ 20% đun nóng. Dựa trên kết quả sắc ký lớp mỏng thu được 15 cao phân đoạn ký hiệu lần lượt là **A** (78,9 mg), **B** (1,1 g), **C** (967,5 mg), **D** (614,7 mg), **E** (5,7 g), **F** (1,1 g), **G** (1,6 g), **H** (2,1 g), **I** (2,7 g), **K** (51,8 g), **L** (15,3 g), **M** (7,0 g), **N** (21,6 g), **O** (21,3 g), **P**

(22,1 g). Từ phân đoạn **K** (51,8 g) tiến hành rửa tinh thể nhiều lần bằng MeOH sau đó kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất **I** (50,0 g) và phân đoạn **L** (15,3 g) được tiến hành sắc ký cột nhiều lần với các hệ dung môi có độ phân cực khác nhau thu được hợp chất **2** (5,0 g) (Hình 1).

Hai hợp chất đối chiếu được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ phổ hấp thu phân tử (UV-Vis), phổ hồng ngoại (IR), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối lượng (HR-ESI-MS). Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng chất đối chiếu với các chỉ tiêu: cảm quan, định tính, mất khối lượng do làm khô, xác định tro sulfate, độ tinh khiết sắc ký.

Xác định độ tinh khiết bằng phương pháp HPLC và thẩm định phương pháp

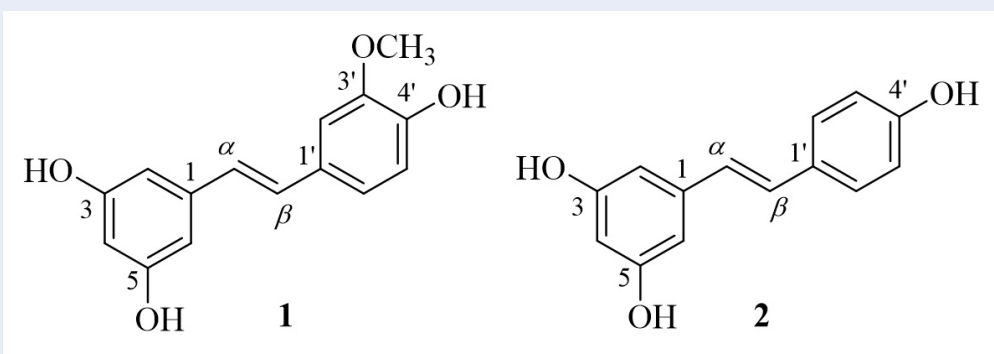
Mẫu thử: các mẫu thử của 2 chất đối chiếu isorhapotigenin và resveratrol đều được pha về nồng độ 100 ppm bằng dung môi ethanol và được lọc qua màng PTFE 0,45 μ m để tiến hành khảo sát HPLC.

Xác định độ tinh khiết của 2 hợp chất resveratrol và isorhapotigenin được thực hiện bằng phương pháp HPLC-DAD quy về 100% diện tích peak trên sắc ký đồ. Khảo sát bước sóng định lượng bằng cách triển khai mẫu chuẩn đối chiếu resveratrol và isorhapotigenin có nồng độ 100 ppm trên máy HPLC với dải bước sóng phát hiện từ 200-900 nm. Dựa vào kết quả đo phổ của đầu dò DAD tìm bước sóng hấp thu cao nhất của resveratrol và isorhapotigenin, từ đó lựa chọn bước sóng định lượng phù hợp cho mỗi hợp chất.

Điều kiện đánh giá độ tinh khiết resveratrol và isorhapotigenin đã được tối ưu trên thống HPLC-DAD Agilent 1260 như sau: cột Eclipse Plus XDB-C18 (150 x 4,6 mm, 5 μ m), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, nhiệt độ cột 35°C, thể tích tiêm 10 μ L, định lượng resveratrol tại bước sóng 307 nm và isorhapontigenin tại bước sóng 324 nm. Hệ pha động đánh giá độ tinh khiết peak được khảo sát trên 4 hệ pha động khác nhau là MeOH:H₂O (35:65), ACN:H₂O (20:80) và ACN:TFA 0,5% (30:70) và chế độ gradient ACN-TFA 0,5% trong nước (Bảng 1). Kết quả lựa chọn tốt nhất cho thí nghiệm này chế độ gradient ACN-TFA 0,5% trong nước, thời gian phân tích 30 phút cả 2 sắc ký đồ của resveratrol và isorhapotigenin đều cho thấy các peak có độ đối xứng cao, khả năng phân tách tốt. Quy trình định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của ICH¹⁷ bao gồm khảo sát tính phù hợp hệ thống, tính chọn lọc, khoảng tuyến tính và độ lặp lại.

Thiết lập chất đối chiếu

Quá trình thiết lập chất chuẩn resveratrol và isorhapotigenin được thực hiện theo các bước:



Hình 1: Cấu trúc các hợp chất phân lập được

Bảng 1: Hệ pha động tối ưu ACN-TFA 0,5% trong nước

Thời gian (phút)	ACN (V/V)	TFA 0,5% trong nước (V/V)
0	10	90
5	20	80
10	30	70
20	60	40
20,5	90	10
23	90	10
23,5	10	90
27	10	90

đóng gói và đánh giá độ đồng nhất của các lọ sau
đóng gói và xác định hàm lượng bằng phương pháp
HPLC-DAD với kết quả được quy về 100% diện tích
peak tính theo nguyên trạng. Việc đánh giá kết quả
định lượng liên phòng được thực hiện tại 2 phòng thí
nghiệm: phòng thí nghiệm Nghiên cứu phát hiện và
phát triển thuốc (PTN 1) và phòng thí nghiệm Phân
tích trung tâm (PTN 2) của Trường Đại học Khoa
học Tự nhiên, ĐHQG-HCM. Thực hiện kiểm tra
Dixon và xác định giá trị ấn định của resveratrol và
isorhapotigenin hướng dẫn TCVN 9596:2013 (ISO
13528:2003)¹⁸.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định cấu trúc và tiêu chuẩn chất lượng chất đối chiếu

Hợp chất **1** (Hình 1) có dạng bột màu nâu nhạt, tan tốt
trong dung môi acetone. Phân tích dữ liệu phổ HR-
ESI-MS, cho thấy có tín hiệu của mũi ion giả phân tử
[M+H]⁺ tại *m/z* 259,09733 (Hình 2), so sánh với lý
thuyết có *m/z* 259,0970 (lệch 0,3 mMass), cho phép
xác nhận công thức phân tử là C₁₅H₁₄O₄. Phổ ¹H-
NMR của hợp chất **1** cho thấy có sự xuất hiện các tín

hiệu của 3 proton thơm ghép hệ ABX [δ_H 7,21 (1H; *d*; *J* = 2,0 Hz), H-2'], [δ_H 6,81 (1H; *d*; *J* = 8,1 Hz), H-5'] và [δ_H 7,01 (1H; *dd*; *J* = 8,1 và 2,0 Hz), H-6']]; 3 proton thơm ghép *meta* với nhau [δ_H 6,54 (2H; *d*; *J* = 2,2 Hz), H-2 và H-6] và [δ_H 6,27 (1H; *t*; *J* = 2,2 Hz), H-4]; 2 proton olefin ghép *trans* [δ_H 6,91 (1H; *d*; *J* = 16,3 Hz), H-*a*] và [δ_H 7,01 (1H; *d*; *J* = 16,3 Hz), H-*b*]; 1 nhóm methoxyl [δ_H 3,89 (3H; *s*), 3'-OCH₃] cùng với 3 nhóm hydroxyl [δ_H 8,24 (2H; *brs*), 3-OH và 5-OH] và [δ_H 7,72 (1H; *brs*), 4'-OH] (Bảng 2). Phổ ¹³C-NMR của hợp chất **1** cho thấy có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng 15 carbon, bao gồm 4 carbon thơm nối oxygen [δ_C 159,6; C-3 và C-5], [δ_C 148,6; C-3'] và [δ_C 147,6; C-4']; 2 carbon thơm mang nhóm thế [δ_C 140,9; C-1] và [δ_C 130,5; C-1']; 6 carbon thơm methine [δ_C 105,7; C-2 và C-6], [δ_C 102,8; C-4], [δ_C 110,2; C-2'], [δ_C 116,0; C-5'] và [δ_C 121,2; C-6']; 2 carbon olefin methine [δ_C 127,1; C-*a*] và [δ_C 129,4; C-*b*] cùng với 1 carbon methoxyl [δ_C 56,3; 3'-OCH₃] (Bảng 2). Từ dữ liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR cho thấy của hợp chất **1** có cấu trúc của một *trans*-stilbene mang 1 nhóm methoxyl và 3 nhóm hydroxyl. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **1** với

hợp chất isorhapontigenin cho thấy có sự tương đồng, vậy hợp chất 1 là isorhapontigenin¹⁹. Hợp chất 2 (Hình 1) có dạng bột màu nâu nhạt, tan tốt trong dung môi acetone. Phân tích dữ liệu phổ HR-ESI-MS, cho thấy có tín hiệu của mũi ion giả phân tử $[M+H]^+$ tại m/z 229,08677 (Hình 2), so sánh với lý thuyết có m/z 229,0865 (lệch 0,3 mMass), cho phép xác nhận công thức phân tử là $C_{14}H_{12}O_3$. Phổ 1H -NMR hợp chất 2 cho thấy tín hiệu cộng hưởng của 2 cặp proton thơm ghép *ortho* [δ_H 7,40 (2H; d ; $J = 8,3$ Hz), H-2' và H-6'] và [δ_H 6,83 (2H; d ; $J = 8,3$ Hz), H-3' và H-5']; 3 proton thơm ghép *meta* với nhau [δ_H 6,53 (2H; d ; $J = 2,2$ Hz), H-2 và H-6] và [δ_H 6,26 (1H; t ; $J = 2,2$ Hz), H-4]; 2 proton olefin ghép *trans* [δ_H 6,87 (1H; d ; $J = 16,3$ Hz), H-a] và [δ_H 7,00 (1H; d ; $J = 16,3$ Hz), H-]; cùng với 3 nhóm hydroxyl [δ_H 8,23 (2H; *brs*), 3-OH và 5-OH] và [δ_H 8,50 (1H; *brs*), 4'-OH] (Bảng 2). Phổ ^{13}C -NMR hợp chất 2 có sự xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 14 carbon. Trong đó có 3 carbon thơm nối oxygen [δ_C 159,6; C-3 và C-5] và [δ_C 158,2; C-4']; 2 carbon thơm mang nhóm thế [δ_C 140,9; C-1] và [δ_C 130,0; C-1']; 2 carbon olefin methine [δ_C 126,9; C-a] và [δ_C 129,1; C-] cùng 7 carbon thơm methine [δ_C 105,7; C-2 và C-6], [δ_C 102,7; C-4], [δ_C 128,7; C-2' và C-6'] và [δ_C 116,4; C-3' và C-5'] (Bảng 2). Từ dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR cho thấy hợp chất 2 có cấu trúc của một *trans*-stilbene với 3 nhóm hydroxyl. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất 2 với hợp chất resveratrol cho thấy sự tương hợp, vậy hợp chất 2 là resveratrol^{20,21}.

219 **Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho chất** 220 **đối chiếu resveratrol và isorhapontigenin**

Sắc ký đồ lớp mỏng với 3 hệ dung môi khác nhau cho thấy cả 2 hợp chất đối chiếu đều tinh khiết sơ bộ trên sắc ký lớp mỏng. Tiến hành phân tích mẫu trắng và mẫu thử với điều kiện pha động tối ưu thu được sắc ký đồ, phổ UV 2 chiều, phổ UV 3 chiều và độ tinh khiết peak tại thời gian lưu tương ứng với peak chính. Độ tinh khiết của chất đối chiếu được quy về 100% diện tích peak. Từ kết quả sắc ký đồ nhận thấy mỗi sắc ký đồ chỉ có 1 peak chính, có độ tinh khiết peak > 95% tính theo nguyên trạng và peak sắc ký đều có ngưỡng tinh khiết cao, cho thấy các hợp chất đối chiếu đều có đủ độ tinh khiết để thiết lập chất chuẩn (Hình 3). Kết quả xây dựng bộ dữ liệu nhận danh hai chất đối chiếu (Bảng 3) bao gồm: cảm quan, nhiệt độ nóng chảy, phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis), phổ hồng ngoại (IR), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối lượng (HR-ESI-MS) cho thấy cả hai chất đối chiếu resveratrol và isorhapontigenin đều cho kết quả nhận danh đúng và độ tinh khiết cao (> 95% tính theo nguyên trạng) phù hợp làm chất đối chiếu.

241 **Kết quả thẩm định quy trình định lượng** 242 **HPLC/DAD theo hướng dẫn của ICH**

243 **Tính tương thích hệ thống**

Kết quả phân tích HPLC lặp lại 6 lần từng loại dung dịch chất đối chiếu resveratrol 100 ppm và isorhapontigenin 100 ppm; xác định các thông số phù hợp hệ thống như diện tích peak, thời gian lưu, số đĩa lý thuyết, hệ số kéo đuôi và độ phân giải. Kết quả có được từ Bảng 4 cho thấy các thông số hoàn toàn phù hợp với yêu cầu để ra, vậy nên quy trình đạt chỉ tiêu tính phù hợp hệ thống.

252 **Tính đặc hiệu**

Tiến hành phân tích HPLC mẫu blank (dung môi ethanol), dung dịch chất đối chiếu resveratrol 100 ppm và isorhapontigenin 100 ppm. Mẫu trắng (blank) không có tín hiệu của 2 chất đối chiếu resveratrol và isorhapontigenin. Phổ UV thu được đúng cho 2 hợp chất đối chiếu với đỉnh hấp thụ cực đại của hợp chất isorhapontigenin là 324 nm và của resveratrol là 307 nm (Hình 3).

261 **Khảo sát tính tuyến tính**

Trong khoảng nồng độ khảo sát của các dung dịch chuẩn resveratrol và isorhapontigenin từ 1-500 ppm (Bảng 5). Sử dụng TCVN 6661-1:2000 kết hợp với phần mềm excel - phân tích phương sai một chiều ANOVA để đánh giá sự phù hợp của phương trình hồi quy tuyến tính, cũng như khoảng tuyến tính và khoảng làm việc của phương pháp. Cho thấy khoảng tuyến tính 1-500 ppm là phù hợp cho cả 2 chất chuẩn, kết quả thu được hai phương trình đường chuẩn: resveratrol: $y = 63,971x - 66,793$ ($R^2 = 0,9999$) và isorhapontigenin: $y = 43,250x - 15,387$ ($R^2 = 0,9999$)

273 **Độ lặp lại và độ tái lập trung gian**

Thực hiện phân tích 6 mẫu chất đối chiếu resveratrol tại nồng độ 100 ppm và 6 mẫu isorhapontigenin tại nồng độ 100 ppm bằng phương pháp HPLC trong cùng một ngày; tương tự lặp lại khảo sát này sau 1 tuần để đánh giá độ tái lập trung gian (Bảng 6). Kết quả của cho thấy độ tinh khiết sắc ký của isorhapontigenin trong 6 mẫu có độ lặp và độ tái lập tốt với 2 ngày phân tích với RSD là 0,32%. Kết quả của cho thấy độ tinh khiết sắc ký của resveratrol trong 6 mẫu có độ lặp và độ tái lập tốt với 2 ngày phân tích với RSD là 0,11%. Điều này chứng tỏ quy trình đạt yêu cầu về độ lặp lại.

286 **Độ đúng**

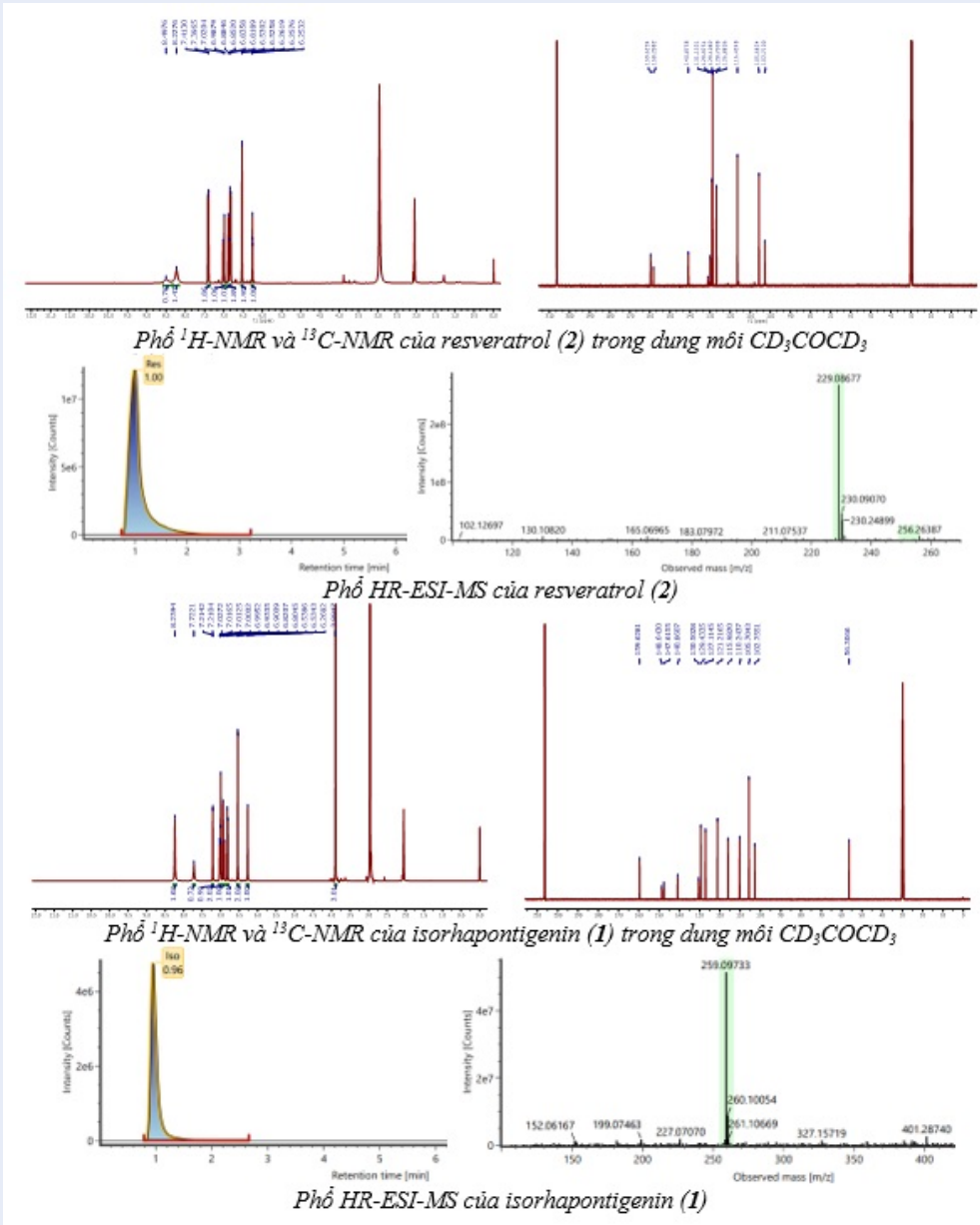
Thực hiện thêm chuẩn vào nền mẫu chất đối chiếu 100 ppm với các mức nồng độ khác nhau, 80%, 100%,

Bảng 2: Dữ liệu phổ NMR của 2 hợp chất phân lập được

Vị trí	Isorhapontigenin (1) (CD ₃ COCD ₃)	Resveratrol (2) (CD ₃ COCD ₃)
	δ_H (ppm)	δ_H (ppm)
1	-	140,9
2	6,54 (1H; d; J = 2,2 Hz)	105,7
3	-	159,6
4	6,27 (1H; t; J = 2,2 Hz)	102,8
5	-	159,6
6	6,54 (1H; d; J = 2,2 Hz)	105,7
α	6,91 (1H; d; J = 16,3 Hz)	127,1
β	7,01 (1H; d; J = 16,3 Hz)	129,4
1'	-	130,5
2'	7,21 (1H; d; J = 2,0 Hz)	110,2
3'	-	148,6
4'	-	147,6
5'	6,81 (1H; d; J = 8,1 Hz)	116,0
6'	7,01 (1H; dd; J = 8,1 và 2,0 Hz)	121,2
3/5-OH	8,24 (2H; brs)	-
4'-OH	7,72 (1H; brs)	-
3'-OCH ₃	3,89 (3H; s)	56,3

Bảng 3: Kết quả đánh giá hai hợp chất đối chiếu

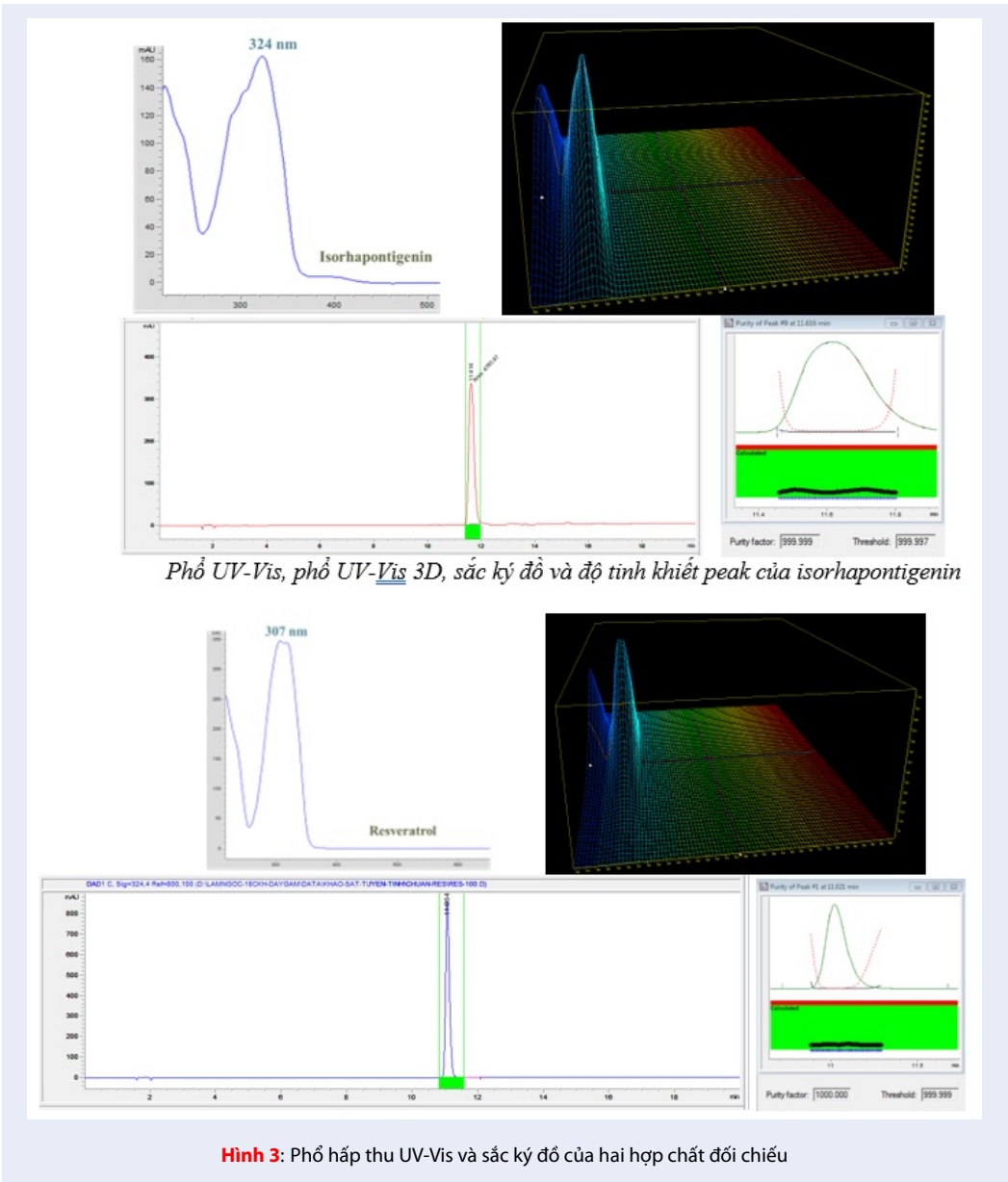
Chỉ tiêu	Phương pháp	Isorhapontigenin	Resveratrol
Vật lý	Cảm quan	Bột mịn, màu nâu nhạt	Bột mịn, màu nâu nhạt
	Nhiệt độ nóng chảy	180-183°C	253-255°C
Định tính	Phổ UV-Vis	Hấp thu cực đại tại bước sóng 324 nm	Hấp thu cực đại tại bước sóng 307 nm
	Phổ IR	Tín hiệu hấp thu đặc trưng (cm ⁻¹): 3363 (O-H), 1608, 1554, 1515 (benzene), 1149 (C-O)	Tín hiệu hấp thụ đặc trưng (cm ⁻¹): 3228 (O-H), 1639, 1569, 1504 (benzene), 1149 (C-O)
	NMR	Đúng	Đúng
	MS	Đúng	Đúng
Độ tinh khiết sắc ký	HPLC-DAD	95,86	99,03



Hình 2: Phổ NMR và MS của 2 hợp chất phân lập được

Bảng 4: Các thông số thể hiện tính phù hợp hệ thống của các chất đối chiếu

Hợp chất	Diện tích peak	Thời gian lưu	Số đĩa lý thuyết (N)	Hệ số kéo đuôi (Tf)	Độ phân giải (RS)
Resveratrol	6110,6	11,0	16758	1,150	3,7
RSD (%)	1,0	0,91	-	-	-
Isorhapontigenin	4085,0	11,6	18636	1,125	3,7
RSD (%)	1,1	0,72	-	-	-
Yêu cầu	$\text{RSD} \leq 2,0\%$	$\text{RSD} \leq 2,0\%$	$N \geq 3000$	$0,9 \leq \text{Tf} \leq 2,0$	$\text{RS} > 1,5$



289 120% so với hàm lượng trong mẫu thử (Bảng 7).
290 Kết quả tỉ lệ phục hồi của isorhapontigenin là 99,4 -
291 101,6%, resveratrol là 98,6 - 101,1%. Như vậy, cả hai
292 hợp chất đều đạt với so với quy định là 98,0% - 102,0%
293 đã chứng tỏ rằng quy trình phân tích đạt yêu cầu về
294 độ đúng.

295 **Thiết lập chất chuẩn đối chiếu**

296 **Đóng gói và đánh giá độ đồng nhất giữa các**
297 **lọ**

298 Độ đồng nhất lọ của resveratrol: thực hiện đóng gói
299 1,0 g resveratrol được đóng gói thành 50 lọ với khối
300 lượng 20,0 mg/lọ. Các lọ được sử dụng là vial thủy

301 tinh 1,5 mL tối màu có chứa khí nitơ 95%, bảo quản ở
302 nhiệt độ 2-8oC, tránh ánh sáng trực tiếp. Số lọ được
303 đánh giá độ đồng nhất được lựa chọn ngẫu nhiên với
304 số lượng theo công thức $g = \sqrt{(N+1)} = 8$ lọ (với N là
305 50 lọ). Do $F_{tn} < F_{tc}$ nên không có sự khác biệt thống
306 kê giữa các kết quả đo được, vậy các lọ chất chuẩn
307 đối chiếu resveratrol đạt yêu cầu về độ đồng nhất hàm
308 lượng sau khi đóng gói (Bảng 8 và 9).

309 Độ đồng nhất lọ của isorhapontigenin được thực
310 hiện tương tự như resveratrol. Tiến hành phân tích
311 phương sai một yếu tố ANOVA (Bảng 8 và 9) để đánh
312 giá độ đồng nhất lọ cho thấy không có sự khác biệt
313 thống kê giữa các kết quả đo được, vậy các lọ chất

Bảng 5: Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của 2 chất đối chiếu

STT	Isorhapontigenin		Resveratrol	
	Nồng độ (ppm)	Diện tích peak	Nồng độ (ppm)	Diện tích peak
1	0,96	41,3	0,99	57,4
2	1,93	76,3	1,98	109,5
3	4,82	196,8	4,96	275,8
4	9,64	407,3	9,91	575,4
5	19,28	827,7	19,83	1152,9
6	48,19	2011,1	49,57	2957,5
7	96,38	4158,0	99,14	6194,6
8	192,76	8332,0	198,28	12785,0
9	481,90	18900,2	495,70	31608,9

Bảng 6: Kết quả khảo sát độ lặp lại và độ tái lặp trung gian

STT	Isorhapotigenin		Resveratrol	
	Độ tinh khiết (%) ngày 1	Độ tinh khiết (%) ngày 2	Độ tinh khiết (%) ngày 1	Độ tinh khiết (%) ngày 2
1	95,89	96,11	98,90	99,21
2	95,97	95,48	99,20	98,91
3	96,01	95,73	99,01	99,02
4	95,63	96,05	99,13	99,16
5	96,13	95,33	99,08	99,03
6	95,33	95,80	99,10	99,21
Trung bình	95,79		99,08	
RSD (%)	0,32		0,11	

314 chuẩn đối chiếu isorhapontigenin đạt yêu cầu về độ
315 đồng nhất hàm lượng sau khi đóng gói.

316 **Kết quả định lượng liên phòng và xác định giá**
317 **trị công bố**

318 Kết quả định lượng liên phòng được thực hiện tại
319 2 phòng thí nghiệm cho thấy hàm lượng resveratrol
320 trong các lọ đều trên 99% và hàm lượng isorhaponti-
321 genin trong các lọ đều trên 95% (Hình 3), các giá trị
322 độ lệch chuẩn tương đối RSD nhỏ hơn 2%, độ chênh
323 lệch kết quả về độ tinh khiết của 2 phòng thí nghiệm
324 < 1%, cho thấy kết quả thu được về độ tinh khiết peak
325 và thời gian lưu phân tích có độ tin cậy cao (Bảng 10).
326 Xác định giá trị ấn định của chất đối chiếu isorhapon-
327 tigenin: au khi tính z-score từ kết quả trên, thu được
328 kết quả các giá trị |z| đều nhỏ hơn 2, như vậy không
329 có giá trị nào bị loại (Bảng 10). Kết quả từ Bảng 11

cho thấy sau 2 lần thay đổi, giá trị s* không thay đổi 330
là 3,279, như thế giá trị x* mới được chọn là 96,38%. 331
Cuối cùng, tính toán giá trị trung bình của tất cả 20 332
giá trị, thu được hàm lượng trung bình là 96,38% (n = 333
20), độ lệch chuẩn ổn định s là 3,279, độ không đảm 334
bảo đo μ là 0,916. 335
Xác định giá trị ấn định của chất đối chiếu resveratrol: 336
au khi tính z-score từ kết quả trên, thu được có một 337
giá trị 99,07% cho kết quả z tương ứng là 2,79 > 2, 338
tiến hành loại bỏ giá trị này, vậy kết quả sẽ được tính 339
trên 19 kết quả còn lại (Bảng 11). Kết quả từ ảng 11 340
cho thấy sau 2 lần thay đổi, giá trị s* không thay đổi 341
là 0,023, như vậy giá trị x* mới được chọn là 99,14%. 342
Cuối cùng, tính toán giá trị trung bình của tất cả 19 343
giá trị, thu được hàm lượng trung bình là 99,14% (n = 344
19), độ lệch chuẩn ổn định s là 0,023, độ không đảm 345
bảo đo μ là 0,0065. 346

Bảng 7: Kết quả khảo sát độ đúng của hai hợp chất đối chiếu

STT	Mức hàm lượng	Isorhapontigenin			Resveratrol		
		Nồng độ thêm vào (ppm)	Nồng độ tìm thấy (ppm)	Độ thu hồi	Nồng độ thêm vào (ppm)	Nồng độ tìm thấy (ppm)	Độ thu hồi
1	80%	76,6	76,1	99,4	79,2	78,1	98,6
2		76,6	76,9	100,4	79,2	79,9	100,9
3		76,6	77,1	100,7	79,2	80,1	101,1
4	100%	95,7	96,2	100,5	99,0	99,2	100,2
5		95,7	95,5	99,8	99,0	98,5	99,5
6		95,7	96,1	100,4	99,0	98,1	99,1
7	120%	114,9	114,4	99,6	118,8	119,4	100,5
8		114,9	115,9	100,9	118,8	117,9	99,2
9		114,9	116,7	101,6	118,8	119,7	100,7

Bảng 8: Kết quả đánh giá đồng nhất giữa các lọ

STT	Hàm lượng (%)	
	Isorhapontigenin	Resveratrol
Lọ 1	96,99	98,99
Lọ 2	95,98	99,00
Lọ 3	96,13	99,03
Lọ 4	95,62	99,04
Lọ 5	96,01	99,03
Lọ 6	96,72	99,06
Lọ 7	95,97	99,03
Lọ 8	96,49	99,02
Trung bình	96,24	99,025
SD	0,47	0,022

Bảng 9: Kết quả phân tích phương sai một yếu tố theo ANOVA

Isorhapontigenin					
Nguồn sai số	Tổng bình phương	Bậc tự do	Bình phương	F _{tn}	F _{tc}
Giữa các nhóm	0,39760945	7	0,044	0,5786	3,020
Trong từng nhóm	0,7635175	8	0,076		
Tổng cộng	1,16112695	15			
Resveratrol					
Nguồn sai số	Tổng bình phương	Bậc tự do	Bình phương	F _{tn}	F _{tc}
Giữa các nhóm	0,002678	7	0,00030	0,0478	3,020
Trong từng nhóm	0,062258	8	0,0062		
Tổng cộng	0,064936	15			

Bảng 10: Kết quả định lượng chất chuẩn đối chiếu ở hai phòng thí nghiệm (n=10)

STT	Isorhapontigenin (1)		Resveratrol (2)	
	PTN 1	PTN 2	PTN 1	PTN 2
1	96,92	95,99	99,15	99,18
2	96,74	95,98	99,14	99,17
3	96,13	96,91	99,13	99,18
4	95,62	96,49	99,16	99,13
5	96,01	96,36	99,15	99,12
6	97,28	95,72	99,13	99,10
7	95,97	97,02	99,14	99,17
8	95,49	96,99	99,14	99,11
9	97,18	95,80	99,13	99,11
10	95,88	97,13	99,15	99,07
Hàm lượng trung bình (> 95%)	96,322	96,439	99,032	99,142
RSD của hàm lượng (< 2%)	0,68	0,57	0,026	0,010

Bảng 11: Kết quả xác định giá trị ổn định của hai hợp chất đối chiếu

	Isorhapontigenin			Resveratrol		
	x ₀ [*]	x ₁ [*]	x ₂ [*]	x ₀ [*]	x ₁ [*]	x ₂ [*]
x [*] - (1,5 x s [*])	-	89,81	91,46	-	99,11	99,10
x [*] + (1,5 x s [*])	-	102,68	101,30	-	99,17	99,17
Hàm lượng trung bình (x)	96,38	96,38	96,38	99,14	99,14	99,14
Độ lệch (s)	0,589	0,589	0,589	0,026	0,021	0,021
Trung bình ổn định của hàm lượng (x [*])	96,25	96,38	96,38	99,14	99,14	99,14
Độ lệch ổn định (s [*])	4,292	3,279	3,279	0,021	0,023	0,023

KẾT LUẬN

Từ cao EtOAc của thân Dây gấm, đã phân lập và xác định được cấu trúc được hai hợp chất tinh khiết là resveratrol và isorhapontigenin. Việc thiết lập chất chuẩn đối chiếu cho resveratrol và isorhapontigenin từ thân Dây gấm cho thấy độ tinh khiết lần lượt đạt 99,14% và 96,38% tính theo nguyên trạng, đảm bảo độ tin cậy cao trong kiểm nghiệm dược liệu. Điều này giúp chủ động nguồn chất chuẩn sử dụng trong phân tích, khắc phục những hạn chế trong việc tìm kiếm chất chuẩn cho phân tích định lượng các hợp chất hữu cơ. Việc có sẵn các chất chuẩn tinh khiết như vậy là rất quan trọng trong lĩnh vực hóa dược, vì nó không chỉ giúp đảm bảo tính chính xác và độ tin cậy của các

kết quả phân tích mà còn hỗ trợ trong việc phát triển và kiểm soát chất lượng của các sản phẩm dược liệu.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ theo mã số DTL.CN-118/21

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

- ¹H-NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ¹H
- ¹³C-NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của ¹³C
- δ_H: ¹H-chemical shift
- δ_C: ¹³C-chemical shift
- brs: Mũi đơn bầu (broad singlet)
- d: Mũi đôi (doublet)

373 DAD: Đầu dò dây diode quang
374 dd: Mũi đôi đôi (doublet of doublets)
375 EtOAc: Ethyl acetate
376 HPLC: Sắc ký lỏng hiệu năng cao
377 HR-ESI-MS: High resolution electrospray ionization
378 mass spectrometry
379 IR: Phổ hồng ngoại
380 MeOH: Methanol
381 m/z : mass to charge
382 NMR: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
383 ppm: part per million
384 PTFE: Polytetrafluoroethylene
385 PTN: Phòng thí nghiệm
386 RSD: Độ lệch chuẩn
387 s: Mũi đơn (singlet)
388 TFA: acid trifluoroacetic
389 UV-Vis: Quang phổ tử ngoại – khả kiến

390 XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

391 Các tác giả cam đoan không có bất kỳ xung đột lợi ích
392 nào trong bài nghiên cứu này.

393 ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

394 Tồn Thất Quang thu hái mẫu và tinh chế các hợp chất,
395 Lê Hữu Thọ điều chế cao chiết, Nguyễn Xuân Hải sắc
396 ký cột điều chế cao phân đoạn, Nguyễn Trung Nhân
397 xác định độ tinh khiết các hợp chất, Đỗ Văn Nhật
398 Trường xác định cấu trúc các hợp chất, thẩm định quy
399 trình phân tích và viết bản thảo, Nguyễn Thị Thanh
400 Mai phân bố cục và chỉnh sửa bản thảo chi tiết. Tất cả
401 các tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối cùng.

402 TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 403 1. Đỗ TL. Những Cây Thuốc Và Vị Thuốc Việt Nam. Hà Nội, Việt
404 Nam: Nhà xuất bản Y Học;.
- 405 2. Ma Y-Q, Zhai Y-M, Deng Y, Guo L, Wan Y-Q, Tan C-H. Stilbeno-
406 phenylpropanoids from *Gnetum montanum* Markgr. *Phyto-*
407 *chemistry Letters*. 2017;21:42-5;.
- 408 3. Xiang W, Jiang B, Li X-M, Zhang H-J, Zhao Q-S, Li S-H, et al. Con-
409 stituents of *Gnetum montanum*. *Fitoterapia*. 2002;73(1):40-2;.
- 410 4. Jian-bo Z, Yu-shu C, Shu-nian Z, Jia-min X. Studies on the
411 chemical constituents of *Gnetum montanum* Markg. *Journal*
412 *of Integrative Plant Biology*. 1989;31(11);.
- 413 5. Li X-m, Lin M, Wang Y-h, Liu X. Four new stilbenoids from the
414 lianas of *Gnetum montanum* f. *megalocarpum*. *Planta medica*.
415 2004;70(02):160-5;.
- 416 6. Martin F, Grkovic T, Sykes ML, Shelper T, Avery VM, Camp D, et
417 al. Alkaloids from the Chinese vine *Gnetum montanum*. *Jour-*
418 *nal of natural products*. 2011;74(11):2425-30;.
- 419 7. Qin Wang L, Xing Zhao Y, Zhou L, Zhou J. Lignans from *Gne-*
420 *tum montanum* Markgr. f. *megalocarpua*. *Chemistry of natu-*
421 *ral compounds*. 2009;45:424-6;.
- 422 8. Wang LQ, Zhao YX, Hu JM, Jia AQ, Zhou J. Stilbene deriva-
423 tives from *Gnetum montanum* MARKGR. f. *megalocarpum*
424 MARKGR. *Helvetica Chimica Acta*. 2008;91(1):159-64;.
- 425 9. Zhai Y-M, Jiang K, Qu S-J, Luo H-F, Tan J-J, Tan C-H. Structurally
426 diverse stilbene dimers from *Gnetum montanum* Markgr.:
427 studies on the ^1H chemical shift differences between dimeric
428 stilbene epimers correlating to the relative configurations.
429 *RSC advances*. 2016;6(55):50083-90;.

10. Ông BN, Nguyễn ĐKQ, Lý HT, Bùi TPQ. Khảo sát thành phần
430 hoá học và hoạt tính sinh học của cao chiết Dây gắm (*Gne-*
431 *tum montanum* Markgr.). *Journal of Science Technology*.
432 2018;1(4);.
11. Pan X, Hou X, Zhang F, Tang P, Wan W, Su Z, et al. *Gnetum*
434 *montanum* extract induces apoptosis by inhibiting the activa-
435 tion of AKT in SW480 human colon cancer cells. *Pharmaceuti-*
436 *cal Biology*. 2022;60(1):915-30;Available from: [https://doi.org/](https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2063340)
437 [10.1080/13880209.2022.2063340](https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2063340).
12. Shen T, Wang X-N, Lou H-X. Natural stilbenes: an overview.
439 *Natural product reports*. 2009;26(7):916-35;.
13. Ashikawa K, Majumdar S, Banerjee S, Bharti AC, Shishodia S,
441 Aggarwal BB. Piceatannol inhibits TNF-induced NF- κ B activa-
442 tion and NF- κ B-mediated gene expression through suppres-
443 sion of I κ B α kinase and p65 phosphorylation. *The Journal of*
444 *Immunology*. 2002;169(11):6490-7;Available from: [https://doi.](https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.11.6490)
445 [org/10.4049/jimmunol.169.11.6490](https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.11.6490).
14. Dvorakova M, Landa P. Anti-inflammatory activ-
447 ity of natural stilbenoids: A review. *Pharmacologi-*
448 *cal Research*. 2017;124:126-45;Available from: [https://doi.](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.08.002)
449 [org/10.1016/j.phrs.2017.08.002](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.08.002).
15. Richard N, Porath D, Radspieler A, Schwager J. Effects of
451 resveratrol, piceatannol, tri-acetoxystilbene, and genistein on
452 the inflammatory response of human peripheral blood leuko-
453 cytes. *Molecular nutrition food research*. 2005;49(5):431-
454 42;Available from: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200400099>.
16. Shishodia S, Aggarwal BB. Resveratrol: a polyphenol for all
456 seasons. *Resveratrol in health and disease*: CRC Press; 2005. p.
457 1-15;Available from: [https://doi.org/10.1201/9781420026474-](https://doi.org/10.1201/9781420026474-1)
458 [1](https://doi.org/10.1201/9781420026474-1).
17. ICH Q2(R2) Validation of analytical procedures - Scientific
460 guideline, ICH Harmonised Guideline. 2022;.
18. ISO 13528 - Statistical methods for use in proficiency test-
462 ing by interlaboratory comparison. ISO copyright office: Pub-
463 lished in Switzerland; 2022;.
19. Fernández-Marín MI, Guerrero RF, García-Parrilla MC, Puertas
465 B, Richard T, Rodriguez-Werner MA, et al. Isorhapontigenin: a
466 novel bioactive stilbene from wine grapes. *Food chemistry*.
467 2012;135(3):1353-9;Available from: [https://doi.org/10.1016/j.](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.086)
468 [foodchem.2012.05.086](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.086).
20. Mattivi F, Reniero F, Korhammer S. Isolation, characteri-
470 zation, and evolution in red wine vinification of resver-
471 atrol monomers. *Journal of Agricultural and Food Chem-*
472 *istry*. 1995;43(7):1820-3;Available from: [https://doi.org/10.](https://doi.org/10.1021/jf00055a013)
473 [1021/jf00055a013](https://doi.org/10.1021/jf00055a013).
21. Zheng L-F, Wei Q-Y, Cai Y-J, Fang J-G, Zhou B, Yang L, et al. DNA
475 damage induced by resveratrol and its synthetic analogues
476 in the presence of Cu (II) ions: mechanism and structure-
477 activity relationship. *Free Radical Biology and Medicine*.
478 2006;41(12):1807-16;Available from: [https://doi.org/10.1016/j.](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.09.007)
479 [freeradbiomed.2006.09.007](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.09.007).

Isolation and establishment of reference standards for resveratrol and isorhapotigenin of the lianas of *Gnetum montanum* Markgr

Truong Van Nhat Do, Hai Xuan Nguyen, Tho Huu Le, Nhan Trung Nguyen, Quang That Ton, Mai Thanh Thi Nguyen*



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City

Correspondence

Mai Thanh Thi Nguyen, Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City

Email: nttmai@hcmus.edu.vn

History

- Received: 27-5-2024
- Revised: 20-2-2025
- Accepted: 18-3-2025
- Published Online:

DOI :



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



ABSTRACT

Gnetum montanum, commonly known as Dây gấm, belongs to the Gnetaceae family. Chemical composition studies have shown that stilbene compounds are the main constituents of this plant. Notably, resveratrol and isorhapotigenin are two significant compounds, comprising approximately 3-5% of the ethanol extract. Both compounds exhibit remarkable biological activities, including anti-inflammatory, anti-cancer, antioxidant properties, tyrosinase inhibition, Cytochrome P450 inhibition, and α -glucosidase inhibition. Resveratrol and isorhapotigenin are essential for assessing and evaluating the quality of *Gnetum montanum* liana and related medicinal materials within the Gnetaceae family. This study successfully established reference standards for resveratrol and isorhapotigenin, isolated from *Gnetum montanum* liana. The results showed high purity levels of 99.14% for resveratrol and 96.38% for isorhapotigenin. The process for determining the purity of resveratrol and isorhapotigenin in *Gnetum montanum* liana was successfully validated using the HPLC-DAD Agilent 1260 system. The mobile phase used in this process was a gradient of ACN and 0.5% TFA in water. The research covered system compatibility, specificity, linearity range, repeatability, and accuracy, all in accordance with ICH guidelines. Establishing these reference standards is crucial for ensuring consistency and reliability in the quality control processes of *Gnetum montanum* and related medicinal products. With these highly pure standards, researchers and manufacturers can accurately measure and verify the presence and concentration of resveratrol and isorhapotigenin in various samples. This contributes to the overall efficacy and safety of herbal medicines derived from *Gnetum montanum*. Furthermore, the validated HPLC-DAD method provides a robust and reliable analytical technique for routine quality control, supporting the standardization of herbal products and enhancing confidence in their therapeutic use. This advancement underscores the importance of rigorous scientific methods in the development and quality assurance of traditional medicinal resources.

Key words: *Gnetum montanum*, Gnetaceae, HPLC, resveratrol, isorhapotigenin

Cite this article : Do TVN, Nguyen H X, Le T H, Nguyen N T, Ton Q T, Nguyen M T T. Isolation and establishment of reference standards for resveratrol and isorhapotigenin of the lianas of *Gnetum montanum* Markgr. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2025; (1):1-1.