

Simultaneous Determination of Prim-O-Glucosylcimifugin and 5-O-Methylvisammioside in Chuanxiongchatiao Pills by HPLC

Xingping Luo¹, Lingxia Yang², Liang Kou¹

¹College of Chemical Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou Gansu

²Gansu Institute for Drug Control, Lanzhou Gansu

Email: aluo009@sina.com

Received: Apr. 26th, 2019; accepted: May 3rd, 2019; published: May 10th, 2019

Abstract

Objective: To establish a HPLC method for the Determination of prim-O-glucosylcimifugin and 5-O-methylvisammioside in Chuanxiongchatiao pills. **Methods:** The HPLC analysis was carried out on Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 × 4.6 mm, 5 μm) with a mixture of acetonitrile-water as the mobile phase. The determination wavelength was set at 302 nm with the flow rate of 1.0 mL/min. **Results:** The prim-O-glucosylcimifugin and 5-O-methylvisammioside showed good linearity in the range of 0.0996 - 0.996 μg (r = 0.9999) and 0.1428 - 1.428 μg (r = 0.9998) respectively. The average recovery rates were 97.57% (RSD = 1.16) and 97.74% (RSD = 1.26) respectively. **Conclusions:** The method is stable and accurate. It can be used for the content determination of prim-O-glucosylcimifugin and 5-O-methylvisammioside in Chuanxiongchatiao pills.

Keywords

Chuanxiongchatiao Pills, Prim-O-Glucosylcimifugin, 5-O-Methylvisammioside, HPLC

高效液相色谱法同时测定川芎茶调丸中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量

罗兴平¹, 杨玲霞², 寇亮¹

¹西北民族大学化工学院, 甘肃 兰州

²甘肃省药品检验研究院, 甘肃 兰州

Email: aluo009@sina.com

收稿日期：2019年4月26日；录用日期：2019年5月3日；发布日期：2019年5月10日

摘要

目的：建立HPLC法同时测定川芎茶调丸中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷含量的方法。方法：采用HPLC法，色谱柱为Agilent Eclipse XDB-C₁₈；水为流动相A，乙腈为流动相B，梯度洗脱；流速为1 mL/min；检测波长为302 nm。结果：升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷分别在0.0996~0.996 μg ($r = 0.9999$)和0.1428~1.428 μg ($r = 0.9998$)之间线性关系良好。升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷平均回收率分别为97.89% (RSD = 2.33%)和97.40% (RSD = 1.43)。结论：该法稳定、准确，重现性好，阴性对照无干扰，可用于川芎茶调丸中色原酮类成分的含量测定。

关键词

川芎茶调丸，升麻素苷，5-O-甲基维斯阿米醇苷，高效液相色谱法

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

川芎茶调丸为常用中成药，主要由川芎、白芷、羌活、细辛、防风等八味中药组成，具有疏风止痛的功能，临床用于风邪头痛，或有恶寒，发热，鼻塞等症具有很好的疗效。川芎茶调丸的质量控制常以阿魏酸、欧前胡素和异欧前胡素[1][2]为指标，难以真正反映该药的量效关系。方中防风具有祛风解表，胜湿止痛，止痉的功效，所含有效成份升麻素苷与5-O-甲基维斯阿米醇苷等色原酮类化合物具有明显的止痛、抗炎、解热等药理作用，这与川芎茶调丸的功能主治相一致。本文采用高效液相色谱法建立了川芎茶调丸中升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量测定方法，为进一步控制该制剂质量提供可靠的科学依据。

2. 仪器与试剂

2.1. 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)；“XS205”电子天平(Mettler toledo 公司)。B3200S-T 型超声波清洗器(上海必能信超声有限公司)，MILLI Q 超纯水纯化系统。

2.2. 试剂

升麻素苷对照品(中国药品生物制品检定院，批号：111522-201511)；5-O-甲基维斯阿米醇苷(中国药品生物制品检定院，批号 111523-201509)；川芎茶调丸(兰州佛慈制药股份有限公司，批号：17F7、17C3、17D9；兰州太宝制药有限公司，批号：53140101、53140207、53140301)。甲醇为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

3. 方法与结果

3.1. 色谱条件

色谱柱：Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 × 4.6 mm, 5 μm)；梯度洗脱条件：0~8 min，乙腈 - 水 (12:88)；

8~10 min, 乙腈 - 水(30:70); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 302 nm。

3.2. 对照品溶液的制备

精密称取升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品适量, 分别加甲醇制成每 1 mL 中含 99.6 μg 、142.8 μg 的溶液, 即得。

3.3. 供试品溶液制备

取本品细粉约 5 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇约 50 mL, 回流提取 4 小时, 回收溶剂至干, 残渣加甲醇溶解并定容至 10 mL, 用 0.46 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

3.4. 阴性对照溶液的制备

依《中国药典 2015 年版一部》川芎茶调丸项下, 取 1/10 处方量, 按制备工艺配制不含防风的阴性供试品, 再按照供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液, 即得。

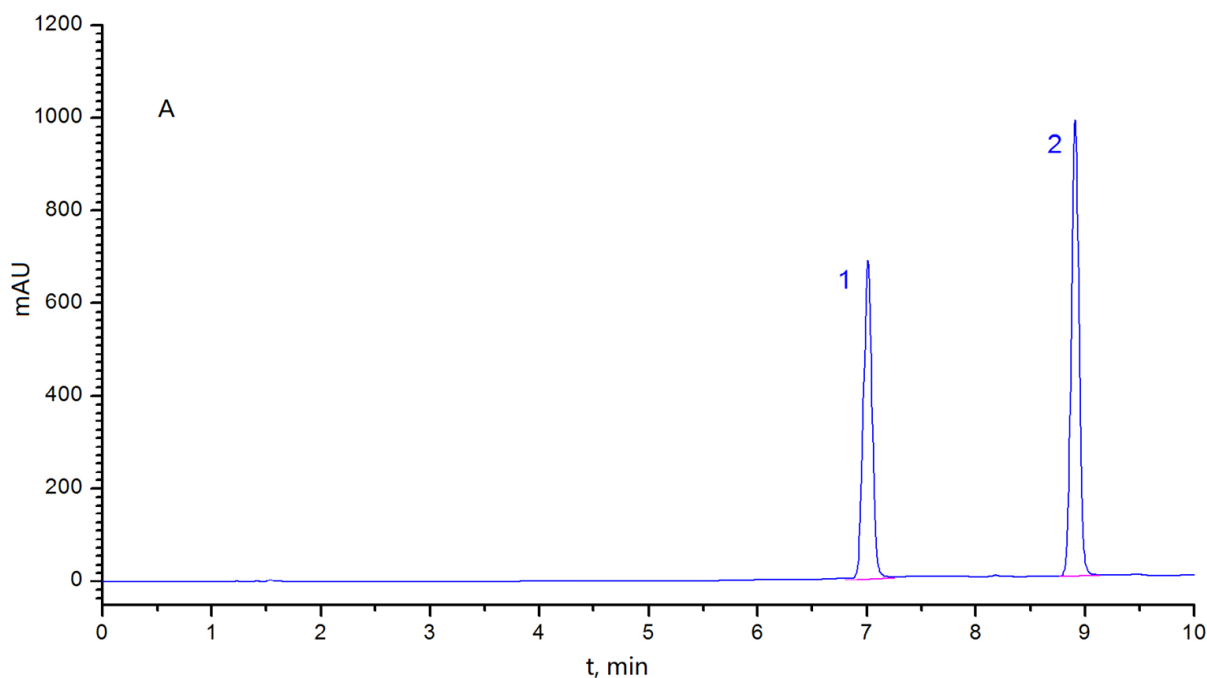
3.5. 方法学研究

3.5.1. 系统适用性实验

精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 10 μl , 按照“2.1”项下色谱条件测定, 结果表明阴性对照溶液在各对照品色谱峰相应的位置处无杂质峰干扰。供试品色谱图中升麻素苷, 5-O-甲基维斯阿米醇苷与其他组分分离度均大于 1.5, 分离良好, 理论塔板数按升麻素苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷峰计均大于 5000, 符合《中国药典》2015 年版一部附录的有关要求。见图 1。

3.5.2. 线性关系

取升麻素苷对照品溶液(99.6 $\mu\text{g/mL}$)、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液(浓度 142.8 $\mu\text{g/mL}$), 分别精密吸取 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μL , 注入液相色谱仪, 按照“2.1”项下色谱条件进行测定, 以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归, 计算回归方程, 结果见表 1。



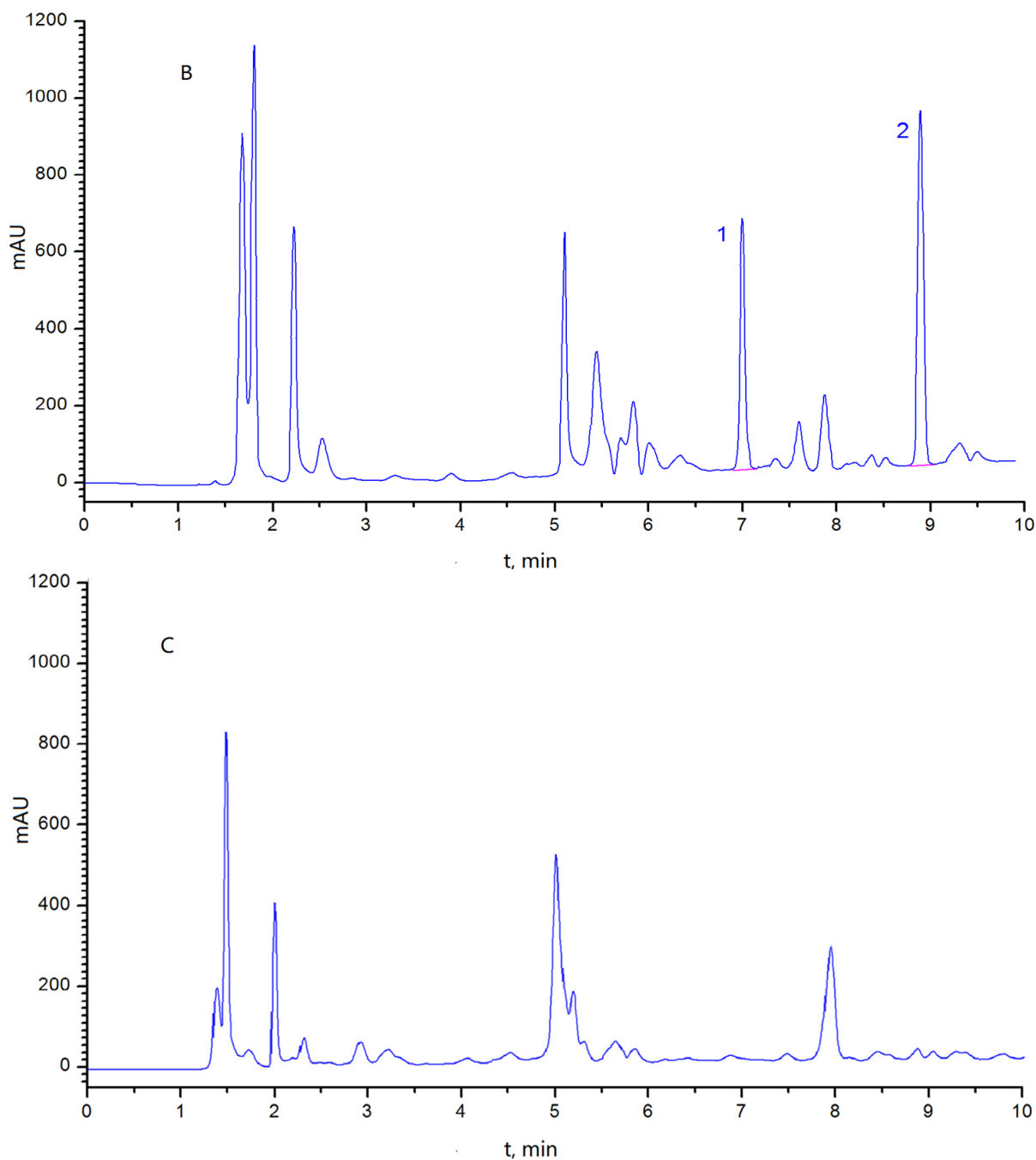


Figure 1. HPLC chromatograms. (A, standard; B, sample; C, Negative Control. (1. prim-O-glucosylcimifugin; 2. 5-O-methylvi-sammioside))

图 1. 高效液相色谱图。(A 对照品; B 供试品; C 阴性对照。(1. 升麻素苷; 2. 5-O-甲基维斯阿米醇苷))

Table 1. Results of working curve

表 1. 工作曲线考察结果

成分	回归方程	线性范围, μg	相关系数
升麻素苷	$Y = 2261.23X + 22.53$	0.0996~0.996	0.9999
5-O-甲基维斯阿米醇苷	$Y = 1751.47X + 36.76$	0.1428~1.428	0.9998

3.5.3. 精密度试验

分别精密吸取升麻素苷对照品溶液、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液各 5.0 μL ，按“2.1”项下色谱条件重复进样 6 次，测定升麻素苷，5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积，峰面积的 RSD 分别为 0.61%、0.82%。表明仪器精密度良好。

3.5.4. 稳定性试验

取供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件，分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样，测定升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积，结果各成分峰面积的 RSD 分别为 0.93% 和 1.07%，表明供试品溶液在 24 小时内稳定。

3.5.5. 重复性试验

取同一批样品(兰州佛慈制药股份有限公司 批号：17C3) 6 份，按“2.3”项下供试品溶液制备方法制备溶液，按“2.1”项下色谱条件，进样测定，计算平均含量，结果升麻素苷为 0.0931 mg/g，RSD 为 2.27%；5-O-甲基维斯阿米醇苷为 0.1224 mg/g，RSD 为 1.31%。表明方法重现性好，符合定量标准要求。

3.5.6. 加样回收率试验

取同一批样品(兰州佛慈制药股份有限公司，批号：17C3) 6 份，分别加入升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷各适量，按“2.3”项下供试品溶液制备方法处理并测定，计算各成分平均回收率，结果见表 2，表明本方法准确可靠。

Table 2. Results of recovery tests

表 2. 加样回收率测定结果

成分	样品原有量, mg	加入对照品量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
升麻素苷	0.2338	0.1992	0.4277	97.34	97.89	2.33
	0.2349	0.1992	0.4375	101.71		
	0.2329	0.1992	0.4272	97.54		
	0.2350	0.1992	0.4266	96.18		
	0.2332	0.1992	0.4308	99.20		
	0.2352	0.1992	0.4252	95.38		
5-O-甲基维斯阿米醇苷	0.3074	0.2856	0.5915	99.47	97.40	1.43
	0.3088	0.2856	0.5823	95.76		
	0.3062	0.2856	0.5876	98.53		
	0.3089	0.2856	0.5871	97.41		
	0.3066	0.2856	0.5816	96.29		
	0.3092	0.2856	0.5861	96.95		

3.5.7. 样品测定

按“2.3”项下方法，对 2 个厂家 6 批样品依法制备供试品溶液，进样测定，计算各成分含量，结果见表 3。

Table 3. Results of contents determination of samples (n = 2)**表 3.** 样品含量测定结果(n = 2)

生产厂家	批号	升麻素苷, mg/g	5-O-甲基维斯阿米醇苷, mg/g
兰州佛慈制药股份有限公司	17F7	0.1043	0.1326
	17C3	0.0931	0.1224
	17D9	0.1128	0.1428
兰州太宝制药有限公司	53140101	0.0827	0.1196
	53140207	0.0935	0.1233
	53140301	0.0874	0.1205

4. 讨论

4.1. 检测波长的选择

《中国药典》2015年版一部中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的测定,检测波长多采用254 nm和290 nm,实验中发现供试品溶液在这两个波长处杂质峰较多,且对主峰测定有干扰,经过紫外光谱测定,升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷均在302 nm处有次最大吸收,以302 nm为测定波长,峰形较好,杂质干扰小,因此选择302 nm作为测定波长。

4.2. 流动相的选择

文献报导升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量测定流动相多采用不同比例的甲醇-水、乙腈-0.05%磷酸、乙腈-甲醇-水[3][4][5][6],实验发现采用乙腈-水为溶剂进行梯度洗脱,在本文条件下升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷能与其它成分峰达到基线分离,且峰形对称良好。

5. 结论

本实验采用HPLC法同时测定川芎茶调丸中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量。实验结果表明该法准确、灵敏,重现性好,结果可靠,为有效控制川芎茶调丸的质量供了方法依据。

基金项目

中央高校基本科研业务费专项资金项目(No. 31920160049, No. 31920190013, No. 31920190018)。

参考文献

- [1] 王兰, 杨芳. 高效液相色谱法测定川芎茶调丸中阿魏酸含量[J]. 现代中医药, 2004(1): 60-62.
- [2] 代磊. HPLC法同时测定川芎茶调散中欧前胡素和异欧前胡素的含量[J]. 安徽医药, 2013, 17(9): 1502-1503.
- [3] 杨友田, 王梅娟, 陆中月, 等. HPLC法同时测定正柴胡饮颗粒中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量[J]. 江苏医药, 2013, 39(15): 1748-1750.
- [4] 姬雪礼, 李文烈, 张永锋. 辛防通窍片中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量测定[J]. 中国药业, 2013, 22(11): 38-40.
- [5] 付聪, 谢林, 吴和珍, 等. 关节熏洗汤剂中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量测定[J]. 中国药师, 2013, 16(11): 1640-1641.
- [6] 陈静, 李正杰, 张彦芬, 等. HPLC法测定痛泄胶囊中升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、芍药苷含量[J]. 中医药信息, 2011, 28(4): 35-37.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2160-441X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：pi@hanspub.org