



Volume 7 | Issue 3

Article 1

Cimifugin Preparation and Quantitative Analysis of Saponinoviae Radix by HPLC

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

Recommended Citation

Yang, L.-L.; Lo, Y.-N.; and Chen, L.-G. (1999) "Cimifugin Preparation and Quantitative Analysis of Saponinoviae Radix by HPLC," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 7 : Iss. 3 , Article 1.
Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2862>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.

防風 Cimifugin 之製備與 HPLC 品質管制

楊玲玲* 羅亞寧 陳立耿

臺北醫學院 生藥學研究所 110臺北市吳興街 250號

摘要

本研究由防風 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 中抽取純化特有之鎮痛、降血壓之活性成分 cimifugin 作為指標成分，並建立防風藥材中 cimifugin 的高效液相層析定量分析模式；其分析條件以 $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ (18:82) 為移動相，流速為 1.0 mL/min，以 LiChrospher 100 RP-18e (4×250 mm) 為分析管柱，以波長 220 nm 檢測，在 40°C 下進行分析。防風中 cimifugin 的最佳抽取條件為以 20 倍量 70% 甲醇水溶液經超音波震盪 40 分鐘可得最高產率。利用上述高效液相層析法定量市售防風藥材中 cimifugin 的含量，結果 cimifugin 含量在 $2.66 \times 10^{-2}\%$ 至 $0.19 \times 10^{-2}\%$ 之間。

關鍵詞：防風，cimifugin，降血壓活性成分，品質管制，高效液相層析。

前 言

中藥防風最早收錄於神農本草經，列為草部上品；據近代本草考察其正品應為繖形科植物防風 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.⁽¹⁾，但其基原相當紊亂⁽²⁻⁵⁾，而對防風藥材之市場調查發現有其他數種繖形科 *Seseli* 屬、*Libanotis* 屬、*Peucedanum* 屬植物亦作為防風藥材於市場販售⁽⁵⁾；另外日本之防風藥材則使用濱防風(*Glehnia littoralis*)^(5,6)。由於臨床許多常用的中藥方劑如：荊防敗毒散、消風散、防風通聖散、玉屏風散等都含有防風藥材，而防風學名及來源複雜；為確保國人用藥安全及中藥製劑療效之恆定性，應對防風藥材進行品質管制，建立其藥材指標成分定量分析之模式。

防風含有 coumarin, chromone, polyacetylene 三大類的化合物⁽⁷⁻¹⁴⁾，其中 chromone 類的 cimifugin, hamaudol 及其葡萄糖配糖體，經藥理試驗証實有降血壓作用

^(15,16)，及鎮痛活性^(2,17,18)；此與古代典籍所記載防風的用途“治療風邪引起的頭痛、形寒、肢酸等症”，有相似之處，基於防風藥理及成分方面的特徵，chromone 類的 cimifugin 的含量對防風藥理活性及療效必有影響。本實驗以 cimifugin 作為防風之指標成分，建立其高效液相層析的定量分析模式⁽¹⁹⁾，並分析市售之防風藥材中 cimifugin 含量，以作為未來中藥製劑品質管制定量之參考。

材料與方法

一、材料

自臺北市中藥市場購買防風藥材，經生藥學鑑定無誤後，大量購買 10 公斤，將藥材切細備用。另自臺北市各中藥商及藥材行購入防風藥材二十批，作為市售品調查之用。

二、儀器與高效液相層析法

核磁共振光譜(NMR)採用 Bruker DRX-500 核磁共振光譜儀測得，質譜(MS)以 Hewlett-Packard GC-MS 5890 Series II 質譜儀直接進樣所測得，紅外線光譜(IR)以 Shimadzu IR-408 紅外線光譜儀測得，紫外線光譜以 Shimadzu UV160 分光光譜儀測得。中壓層析管柱採用 15×450 mm 之玻璃管柱(Ace Glass Incorporation)充填 ODS-AQ120-S50 (YMC)，溶媒以 QG20 PUMP (FMI LAB)輸送，RETRIEVER II (ISCO)

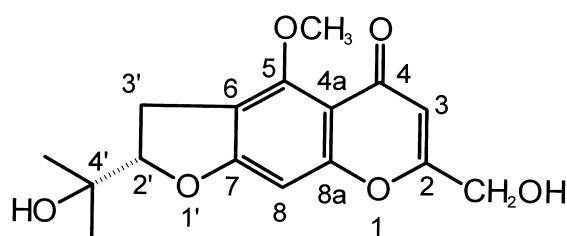


Figure 1. Structure of cimifugin.

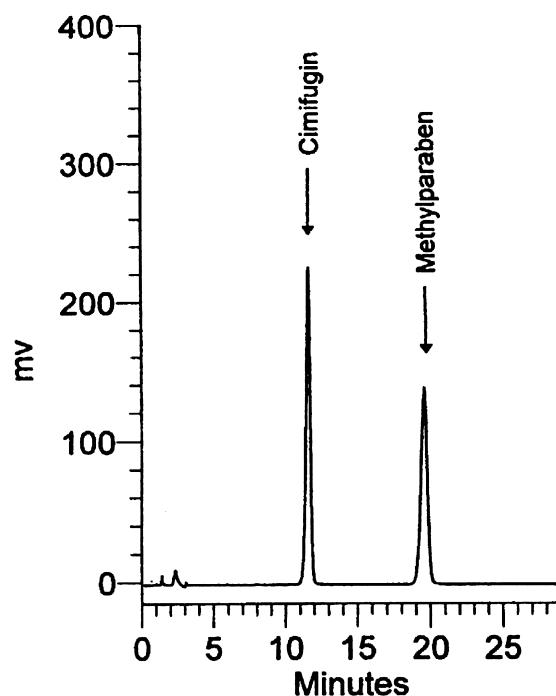


Figure 2. HPLC chromatogram of cimifugin and methylparaben (internal standard). HPLC condition: LiChrospher 100 RP-18e (4 mm i.d. \times 250 mm, 5 μ m) column eluted with $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (18:82) at a flow rate of 1.0 mL/min and detection

部分收集器收集。高效液相層析儀之溶媒輸送系統採用 Shimadzu LC-10AS，連接 Shimadzu SIL-9A 自動注射器、Shimadzu CTO-6A 管柱恆溫箱及 Shimadzu SPD-6AV 檢測器，以 Chem. Lab Data Station ver. 1.0 (Scientific Information Service Corporation) 層析軟體作圖譜數據積分處理。其高效液相層析條件如下：層析管 LiChrospher 100 RP-18e (4 \times 250 mm, 5 μ m; Merck, Germany)，移動相為 $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (18: 82)，流速 1.0 mL/min，管柱溫度維持在 40°C，檢測波長 220 nm，分析樣品量 20 μ L。

三、內部標準品與溶媒

內部標準品 *p*-hydroxybenzoic acid methyl ester (methylparaben)購自 Sigma 公司(St. Louis, MO, USA)，acetone nitrile (CH_3CN)採用 HPLC 級，購自 Mallinckrodt 公司(Kentucky, USA)，超純水以 Milli-Q RG 系統製得(Millipore, Bedford, MA, USA)，其電阻率(resistivity)大於 18 M Ω \times

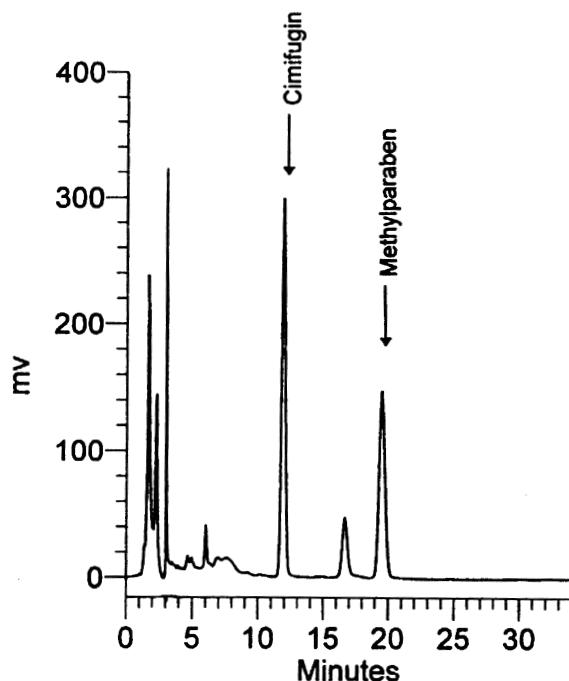


Figure 3. HPLC chromatogram of cimifugin in Saponnikoviae Radix. Methylparaben was used as internal standard. Refer to Figure 2 for conditions.

cm²。

四、實驗方法

(一)防風指標成分 cimifugin 之分離純化與鑑定

將防風藥材 10 公斤以 100 公升甲醇加熱迴流萃取 2 次，甲醇萃取液經過濾、濃縮後以水懸浮，依次以正己烷、乙酸乙酯、正丁醇進行分配，其中乙酸乙酯部分利用矽膠管柱層析依次以正己烷-乙酸乙酯與乙酸乙酯-甲醇之梯度移動相沖提，於乙酸乙酯-甲醇(10:1)之移動相可得 cimifugin 之粗結晶，再以 ODS-AQ (YMC) 之中壓層析管柱(15 × 450 mm)以 CH₃CN-H₂O (15:85)為移動相，可得到高純度(以高效液相層析檢測波峰之相對純度為 99.8%)的標準品 cimifugin (200 mg)。

正丁醇部分濃縮後以 CHCl₃-MeOH-H₂O (7:10:8)之上層液與下層液 1:1 (v/v)進行分配，其下層液濃縮後以矽膠管柱層析法依上述方式進行分離純化，可獲得 cimifugin (127 mg)，分離出的 cimifugin 以乙醇再結晶可得無色針狀結晶，經由 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, UV, IR, Mass 等儀器分析而確定其結構⁽²⁰⁾。其光譜數據如下：

Cimifugin 融點 102-102.5°C。EI-MS: 306 [M⁺]。UV λ_{max}(EtOH) nm (log ε): 229 (3.94), 244 (3.85), 250 (3.75), 293 (4.15)。IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹: 3300, 1660, 1620, 1580, 1095, 855。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)δ: 6.42 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, s, H-3), 4.69 (1H, t, J=8.8 Hz, H-2'), 4.45 (2H, s, -CH₂OH), 3.90 (3H, s, -OCH₃), 3.23 (2H, d, J=8.8 Hz, H-3'), 1.35 (3H, s, -CH₃), 1.22 (3H, s, -CH₃)。¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃)δ: 177.6(C-4), 165.4(C-2), 164.5(C-5), 159.4(C-7), 155.8(C-8a), 117.1(C-6), 112.1(C-4a), 109.4(C-3), 93.8(C-8), 91.4(C-2'), 71.6(C-4'), 61.1(-OCH₃), 61.0(-CH₂OH), 27.8(C-3'), 26.1(-CH₃), 24.3(-CH₃)。

(二)檢量線之製作

精確稱取 cimifugin 及 p-hydroxybenzoic acid methyl ester (methylparaben)，以適量 MeOH 溶解後，配製為 cimifugin 儲存溶液 (0.1 mg/mL) 及 內 部 標 準 品 溶 液 (1.0

mg/mL)。將 cimifugin 儲存溶液以甲醇稀釋調配成一系列七種不同濃度之標準溶液 (20 μg/mL, 10 μg/mL, 5 μg/mL, 2.5 μg/mL, 1.0 μg/mL, 0.5 μg/mL, 0.1 μg/mL)，各溶液均含相同濃度 (100 μg/mL) 之內部標準品。將上述溶液注入高效液相層析儀分析，以標準品與內部標準品之波峰面積比為 Y 軸，標準品之濃度為 X 軸作圖，求出檢量線之線性方程式及相關係數。

(三)防風中 cimifugin 最佳抽取條件之選擇

1. 最佳抽取溶媒之選擇

精確稱取防風 0.5 克分別加入 10 mL 水、甲醇、90% 甲醇、80% 甲醇、70% 甲醇、60% 甲醇、乙醇、50% 乙醇、CH₃CN、50% CH₃CN，以超音波震盪 30 分鐘後，以 7000 rpm 離心，上清液 5 mL 加入內部標準品溶液 1 mL 再加 MeOH 至 10 mL，以 0.45 μm 之 FP Vericel (PVDF) 濾膜 (Gelman Sciences) 過濾，濾液供作檢液，以高效液相層析儀進行定量分析。

2. 最佳抽取溶媒倍數之選擇

精確稱取防風 0.5 克分別加入 10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、100 倍、200 倍量之最佳抽取溶媒，以超音波震盪 30 分鐘後，以 7000 rpm 離心，上清液 5 mL 加入內部標準品溶液 1 mL 再加 MeOH 至 10 mL，以 0.45 μm 之 FP Vericel 濾膜過濾，濾液供作檢液，以高效液相層析儀進行定量分析。

3. 最佳抽取時間之選擇

精確稱取防風 0.5 克加入最佳抽取倍數之最佳抽取溶媒，分別以超音波震盪 10, 20, 30, 40, 50, 60 分鐘後，以 7000 rpm 離心，上清液 5 mL 加入內部標準品溶液 1 mL 再加 MeOH 至 10 mL，以 0.45 μm 之 FP Vericel 濾膜過濾，濾液供作檢液，以高效液相層析儀進行定量分析。

(四)檢品溶液之配製與測定

精確稱取防風各市售品 0.5 克，以上述所得之最佳抽取條件進行抽取後，以 7000 rpm

離心，上清液 5 mL 加入內部標準品溶液 1 mL 再加 MeOH 至 10 mL，以 0.45 μm 之 FP Vericel 濾膜過濾，濾液供作檢液，以高效液相層析儀進行定量分析。

(五) 同日內與異日間分析之變異

1. 同日內分析之變異

將防風市售品依檢品溶液之配製方法，在同日內作 3 次分析，計算其平均值、標準偏差及變異係數(%)，以評估其分析條件之穩定性及測量值之再現性。

2. 異日間分析之變異

將防風市售品依檢品溶液之配製方法，在連續 3 日各作 3 次分析共九個分析數據，計算其平均值、標準偏差及變異係數(%)，以評估其分析條件之穩定性及測量值之再現性。

(六) 添加回收率(recovery)試驗

精確稱取已分析 cimifugin 含量之防風檢品 0.5 g，先分別加入 250 μL, 100 μL, 50 μL 之 cimifugin 儲存溶液(100 μg/mL)後，再加入 MeOH 至 10 mL，依最佳抽取條件進行抽取，抽取液以 7000 rpm 離心，上清液 5 mL 加入內部標準品溶液 1 mL 再加 MeOH 至 10 mL，以 0.45 μm 之 FP Vericel 濾膜過濾，濾液供作檢液，以高效液相層析儀進行定量分析。

結果與討論

一、防風指標成分 cimifugin 之分離純化

防風除了乙酸乙酯層可分離出 cimifugin，其正丁醇部分仍含有少量的 cimifugin，但由於正丁醇萃取物較複雜且含糖類等極性成分，分離較為困難，文獻記載以活性炭吸附後再以甲醇沖提出成分，再經製備型 HPLC 分離純化⁽¹⁴⁾；但由於經吸附過程易造成損失，更因沖提物中仍含許多非極性成分，以昂貴的製備型 HPLC 進行分離相當耗時且易使管柱效能低下。經嘗試各種液相分配法後，將正丁醇部分改以 CHCl₃-MeOH-H₂O (7:10:8)之上層液與下層液 1:1 (v/v) 進行液相分配法，將含

cimifugin 之下層(氯仿層)與含糖類之上層液分離，下層液經減壓濃縮後以矽膠管柱層析進行分離純化，不需經過 ODS 管柱只需再結晶即可獲得 cimifugin (127 mg)。此液相分配法可有效濃縮正丁醇部分中 cimifugin，減少極性成分對矽膠管柱層析所造成的干擾，並免除使用昂貴的製備型 HPLC，故較為經濟。

二、Cimifugin 之檢量線

除由防風中抽取純化特有之鎮痛、降血壓之活性成分 cimifugin 作為此藥材之指標成分，並建立防風藥材中 cimifugin 的高效液相層析定量分析模式；其分析條件以 CH₃CN-H₂O(18:82)為移動相，流速 1.0 mL/min，以 LiChrospher 100 RP-18e (4 × 250 mm)為分析管柱，以波長 220 nm 檢測，在 40°C 下進行分析。

將不同濃度之 cimifugin 以 HPLC 分析，

Table 1. Effect of solvents on the yields of cimifugin in Saponnikoviae Radix

| Solvent | Yield (μg/g) Mean ± S.D. |
|------------------------|--------------------------|
| H ₂ O | 75.72±2.08 |
| MeOH | 60.48±2.21 |
| 90% MeOH | 71.87±1.71 |
| 80% MeOH | 73.20±2.90 |
| 70% MeOH | 75.98±0.20 |
| 60% MeOH | 74.80±2.04 |
| EtOH | 9.01±0.16 |
| 50% EtOH | 71.19±2.26 |
| CH ₃ CN | 15.80±0.70 |
| 50% CH ₃ CN | 73.91±2.78 |

S.D.: Standard deviation. n=3.

Table 2. Effect of volumes of 70% methanol on the yields of cimifugin in Saponnikoviae Radix

| 70% methanol (mL) | Yield (μg/g) Mean ± S.D. |
|-------------------|--------------------------|
| 5 | 69.19±1.58 |
| 10 | 69.97±1.53 |
| 15 | 69.99±0.68 |
| 20 | 69.74±0.62 |
| 25 | 69.26±0.85 |
| 50 | 68.64±0.91 |

S.D.: Standard deviation. n=3.

Table 3. Effect of extraction time on the yield of cimifugin

| Time (min) | Yield of cimifugin ($\mu\text{g/g}$) Mean \pm S.D. |
|------------|---|
| 10 | 15.39 \pm 0.78 |
| 20 | 14.77 \pm 0.48 |
| 30 | 27.06 \pm 0.86 |
| 40 | 65.00 \pm 1.32 |
| 50 | 65.54 \pm 2.01 |
| 60 | 64.10 \pm 2.12 |

S.D.: Standard deviation. n=3.

Table 4. Intraday and interday assay variations of cimifugin in Saponnikoviae Radix

| | Mean \pm S.D. ($\mu\text{g/g}$) | R.S.D. (%) |
|-----------------------|-------------------------------------|------------|
| Intraday ^a | 93.30 \pm 0.36 | 0.39 |
| Interday ^b | 93.20 \pm 0.54 | 0.58 |

S.D.: Standard deviation. R.S.D.: Relative standard deviation.

^an=3. ^bn=9.**Table 5.** Recovery of cimifugin in Saponnikoviae Radix

| Cimifugin content in Saponnikoviae Radix ($\mu\text{g/g}$) | Amount added ($\mu\text{g/g}$) | Amount found (mean \pm S.D., $\mu\text{g/g}$) | Recovery (mean \pm S.D., %) |
|--|----------------------------------|--|-------------------------------|
| 51.6 | 20.0 | 20.18 \pm 0.44 | 100.90 \pm 2.20 |
| 51.6 | 40.0 | 39.48 \pm 0.68 | 98.70 \pm 1.70 |
| 51.6 | 100.0 | 98.84 \pm 0.96 | 98.84 \pm 0.96 |

S.D.: Standard deviation. n=3.

Table 6. Content of cimifugin in commercial Saponnikoviae Radix

| Sample | Mean \pm S.D. ($\mu\text{g/g}$) | R.S.D. (%) | Sample | Mean \pm S.D. ($\mu\text{g/g}$) | R.S.D. (%) |
|--------|-------------------------------------|------------|--------|-------------------------------------|------------|
| 1 | 33.38 \pm 1.58 | 4.73 | 11 | 19.09 \pm 0.12 | 0.65 |
| 2 | 32.43 \pm 1.17 | 3.61 | 12 | 45.88 \pm 0.17 | 0.37 |
| 3 | 21.87 \pm 0.52 | 2.37 | 13 | 27.28 \pm 1.09 | 4.00 |
| 4 | 30.25 \pm 0.23 | 0.75 | 14 | 30.59 \pm 0.03 | 0.11 |
| 5 | 36.29 \pm 0.17 | 0.48 | 15 | 80.92 \pm 2.97 | 3.67 |
| 6 | 41.36 \pm 0.68 | 1.65 | 16 | 40.19 \pm 0.24 | 0.59 |
| 7 | 39.23 \pm 0.39 | 1.00 | 17 | 73.94 \pm 1.48 | 2.00 |
| 8 | 93.30 \pm 0.36 | 0.39 | 18 | 92.10 \pm 1.12 | 1.21 |
| 9 | 68.59 \pm 0.92 | 1.34 | 19 | 106.57 \pm 3.32 | 3.12 |
| 10 | 266.81 \pm 0.82 | 0.31 | 20 | 48.24 \pm 2.32 | 4.81 |

S.D.: Standard deviation. R.S.D.: Relative standard deviation.

n=3.

應用線性回歸求得 cimifugin 之檢量線公式 $Y=0.1871X+0.0453$ ($r=0.9990$)，顯示具有良好之線性關係。其中 Y 代表標準品 cimifugin 與內部標準品(methylparaben)之波峰積分面積之比值，X 代表 cimifugin 之濃度 ($\mu\text{g/mL}$)。並以標準品溶液連續稀釋求出 HPLC 分析可定量 cimifugin 之最低濃度(limit of quantitation, LOQ)為 $0.1 \mu\text{g/mL}$ 。

三、防風 cimifugin 最佳抽取方法之探討

本研究分別探討不同抽取溶媒、倍數，時間對防風中 cimifugin 抽出率之影響(Table 1、Table 2 與 Table 3)。結果顯示防風中 cimifugin 的最佳抽取條件為以藥材 20 倍量 (v/w) 之 70% 甲醇水溶液經超音波震盪 40 分鐘可得最高產率。

本研究之同日內與異日間分析變異係數均小於 5%，顯示實驗之再現性良好(Table 4)。由添加回收率(recovery)試驗結果(Table 5)，cimifugin 回收率分別為 100.9% 及 98.7%，顯示此分析方法準確性佳。

四、市售防風藥材cimifugin之含量

將防風以最佳抽取條件萃取後，依上述HPLC條件分析市售之防風每公克藥材中cimifugin含量，結果顯示含量最高為 $266.81\text{ }\mu\text{g}$ ($2.66 \times 10^{-2}\%$)，最低為 $19.09\text{ }\mu\text{g}$ ($0.19 \times 10^{-2}\%$)，差異達十四倍(Table 6)，此結果顯示市場販售之防風cimifugin含量差異性大。防風中cimifugin含量可能與產地與採收季節有關；中藥所用的防風為未抽花莖植株之乾燥根，又稱公防風，若已開花植株稱為母防風，傳統認為母防風品質低劣，不堪入藥，而分析母防風的chromone含量為公防風的46.5-86.0%⁽²⁾；因而市售防風中可能有質量較差的母防風混雜，故造成cimifugin含量之顯著差異。

中藥的品質管制為提高中藥製劑產品品質均一性之重要工作，而品質管制有賴指標成分之製備及分析模式的建立。目前部分中藥之指標成分雖有部分販售，但絕大多數仍需自行分離純化，因此本研究建立防風藥材中指標成分cimifugin之製備及HPLC分析模式，將對提升國內中藥廠製藥水準有所幫助。

誌謝

本研究承蒙行政院衛生署中醫藥委員會八十七年度委託研究計畫(CCMP87-RD-029)經費之補助，謹致謝忱。

參考文獻

1. Wang, J. H. and Lou, Z. C. 1989. Review of the studies on the Chinese drug fangfeng, the root of *Saposhnikovia divaricata*. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* 14 : 579-581.
2. Wang, J. H. and Lou, Z. C. 1989. Herbalogic studies on the Chinese drug fangfeng. *Chung-Kuo Chung Yao Tsa Chih* 14 : 579-581.
3. Zhuang, P. and Huang, M. 1994. Chemical constituents and clinical applications of *Saposhnikovia divaricata*. *Zhongcaoyao* 25: 438-440 .
4. Wang, J. H. and Lou, Z. C. 1988. The scientific name of the plant fangfeng. *Chung Yao Tung Pao* 13 : 5-7.
5. Wang, J. H. and Lou, Z. C. 1988. Plant origin of the commercial drug fangfeng. *Chung Yao Tung Pao* 13: 9-10.
6. Oyanagi, M., Hiraoka, N., Tomita, Y., Ogawa, T., Mizukami, H. and Ohashi, H. 1990. High-performance liquid chromatographic analysis of furanocoumarins in *Glehnia littoralis*. *Shoyakugaku Zasshi* 44: 219-224.
7. Baba, K., Yoneda, Y., Kozawa, M., Fujita, E., Wang, N.-H. and Yuan, C.-Q. 1989. Studies on Chinese traditional medicine "Fang-Feng" (II). Comparison of several Fang-Feng by coumarins, chromones and polyacetylenes. *Shoyakugaku Zasshi* 43: 216-221.
8. Baba, K., Qing, X. Y., Taniguchi, M., Kozawa, M. and Fujita, E. 1991. Studies on Chinese medicine "Fang-Feng" (III) constituents of Shui-Fang-Feng. *Shoyakugaku Zasshi* 45: 167-173.
9. Umetsu, K., Kasahara, M., Hiraoka, N. and Tomita, Y. 1992. Furanocoumarin composition in the fruit of *Glehnia littoralis* of different geographical origin. *Shoyakugaku Zasshi* 46: 179-183.
10. Ding, A., Wang, Q., Li, S. and Jiao, K. 1987. Chemical constituents of Quangangfeng (*Saposhnikovia divaricata*). *Zhongcaoyao* 18: 247-249.
11. Wang, J. and Lou, Z. 1987. Chemical constituents of volatile oil from *Saposhnikovia divaricata*. *Chinese Pharmaceutical Bulletin* 22: 335-338.
12. Tang, X., Yang, D. and Zhu, K. 1992. Analysis of essential oil from *Libanotis laticalyicina* Shan et Sheh. by GC-MS. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 17: 40-42.
13. Jin, G., Li, J. and Piao, H. 1992. Chemical constituents of *Ledebouriella seseloides* Wolff. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 17: 38-40.
14. Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T. and Yosioka, I. 1982. The constituents of *Ledebouriella seseloides* Wolff. I. Structures of three new chromones. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 30: 3555-3562.
15. Tsumura Juntendo Co., Ltd. 1983. Antihypertensive pharmaceuticals containing chromone

- derivatives. Japan Kokai Tokkyo Koho JP 58: 55420.
16. Tsumura Juntendo Co., Ltd. 1983. Antihypertensive pharmaceuticals containing chromone derivatives. Japan Kokai Tokkyo Koho JP 58: 55419.
17. Wang, F. R., Xu, Q. P. and Li, P. 1991. Comparative studies on the febrifugal analgesic and anticonvulsive activities of water extracts from cultivated and wild *Saposhnikovia divaricata*. Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih 11: 730-732.
18. Wang, J. 1989. Comparative studies on the

Cimifugin Preparation and Quantitative Analysis of *Saposhnikoviae Radix* by HPLC

LING-LING YANG*, YA-NING LO AND LIH-GEENG CHEN

*Graduate Institute of Pharmacognosy Science, Taipei Medical College,
250 Wu-Hsing Street, Taipei 110, Taiwan, R.O.C.*

ABSTRACT

Cimifugin, one of the principal analgesic and anti-hypertensive component of Fang-Feng, was isolated from the root of *Saposhnikovia divaricata*. Reversed-phase high-performance liquid chromatography was employed to determine the contents of cimifugin in Fang-Feng. The separation was performed on a LiChrospher 100 RP-18e column (4×250 mm) by isocratic elution with acetonitrile-water (18:82) as the mobile phase at a flow-rate of 1.0 mL/min, the temperature being kept at 40°C and the detection set at 220 nm. Methylparaben was used as the internal standard. The regression equation revealed linear relationship between the peak-area ratio (marker substance/internal standard) and concentration. We found that Fang-Feng extracted with twenty-fold of 70% aqueous methanol under sonication for 40 minutes gives the best yield of cimifugin. The contents of cimifugin in commercially available *Saposhnikoviae Radices* have been determined and the amount was found to vary from $2.66 \times 10^{-2}\%$ to $0.19 \times 10^{-2}\%$. This HPLC method can rapidly and easily quantify the cimifugin present in Fang-Feng and can be used for quality control of this commercial crude drug.

Key words: *Saposhnikovia divaricata*, cimifugin, antihypertensive, quality control, HPLC.