

## HPLC-ELSD 法测定青箱子中青箱苷 A 和青箱苷 B 的含量

王莹<sup>1,2</sup>, 郭美丽<sup>1\*</sup>, 王笑康<sup>2</sup>, 殷军<sup>2</sup>

(1. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433; 2. 沈阳药科大学中药学院生药学教研室, 沈阳 110016)

**[摘要]** 目的: 测定青箱子中青箱苷 A 和青箱苷 B 的含量。方法: HPLC-ELSD 法, 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%冰乙酸水溶液梯度洗脱, 以蒸发光散射检测器(ELSD)检测。结果: 青箱苷 A 在 2.5~30.0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 回收率为 99.89%, RSD 为 1.85% (n=6); 青箱苷 B 在 1.25~15.0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 回收率为 98.98%, RSD 为 1.78% (n=6)。8 个市售青箱子样品中青箱苷 A 和青箱苷 B 的含量存在显著差异, 分别在 (0.051 2±0.001 6)%~(0.114 3±0.000 8)% 和 (0.010 9±0.001 9)%~(0.081 5±0.000 9)% 范围内。结论: 本研究首次建立了用 HPLC-ELSD 法测定青箱子有效成分的方法, 该方法定量准确、操作简便。

**[关键词]** 青箱子; 青箱苷 A; 青箱苷 B; 色谱法, 高压液相; 蒸发光散射检测器

**[中图分类号]** R 282.71

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2007)11-1245-03

### HPLC-ELSD in determination of celosin A and celosin B contents in *Semen celosiae*

WANG Ying<sup>1,2</sup>, GUO Mei-li<sup>1\*</sup>, WANG Xiao-kang<sup>2</sup>, YIN Jun<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacognosy, College of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To determine the contents of celosin A and celosin B in *Semen celosiae*. **Methods:** HPLC was carried out with an Agilent Alliance, Model 1100, equipped with Elite ODS C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) and evaporated light scattering detector (ELSD). The mobile phase (acetonitrile-0.1% glacial acetic acid) was eluted in gradient mode. **Results:** Celosin A and the peak area showed a good linearship within the range of 2.5-30.0 μg, with the recovery rate being 99.89% (n=6) and RSD being 1.85%. Celosin B and the peak area showed a good linearship within the range of 1.25-15.0 μg, with the recovery rate being 98.98% (n=6) and the RSD being 1.78%. Contents of celosin A and celosin B in 8 *Semen celosiae* samples on medical markets were obviously different from each other, ranging from (0.051 2±0.001 6)% to (0.114 3±0.000 8)% and (0.010 9±0.001 9)% to (0.081 5±0.000 9)%. **Conclusion:** We have established an HPLC-ELSD method for determining the effective contents of *Semen celosiae*; the method is accurate and simple.

**[KEY WORDS]** *Semen celosiae*; celosin A; celosin B; chromatography, high pressure liquid; evaporative light scattering detector

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(11): 1245-1247]

青箱子为苋科青箱 (*Celosia argentea* L.) 的干燥成熟的种子, 始载于《神农本草经》, 是传统的清肝明目药物。青箱子味苦、性微寒, 归肝经, 具有清肝、明目、退翳之功效, 用于肝热目赤、眼生翳膜、视物昏花、肝火眩晕<sup>[1]</sup>。现代药理学研究表明, 青箱子具有保肝<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3]</sup>、降血糖<sup>[4-5]</sup>等作用, 对脂肪肝等亦具有很好的防治作用<sup>[6]</sup>。目前, 《中国药典》(2005 版) 尚无青箱子的定量分析方法。我们前期在对青箱子化学成分研究的基础上, 从青箱子中分得了 2 个新化合物青箱苷 A (celosin A) 和青箱苷 B (celosin B), 药效学实验表明, 二者均具有一定的保肝活性<sup>[6]</sup>。本研究建立了青箱子中青箱苷 A 和青箱苷 B 的含量测定方法, 并对青箱子中二者的含量进行了测定, 以期建立青箱子的质量控制标准。

### 1 仪器、试剂和样品

Agilent 1100 高效液相色谱仪; 法国 SEDEX 85

型蒸发光散射检测器(ELSD); XWK-3A 型空气泵。乙腈为色谱纯, Fisher 公司产品; 冰乙酸为色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司产品(含量≥99.5%); 水为双蒸水, 自制。

青箱苷 A 和青箱苷 B 的对照品为本实验室自制(含量≥98.0%)。

我们收集了市售青箱子药材共 8 批, 经第二军医大学药学院生药学教研室郭美丽教授鉴定为青箱 (*Celosia argentea* L.) 的干燥成熟种子。

**[基金项目]** 上海市中药现代化专项基金(06DE19715); 军队“十一五”中医药研发推广专项基金(2006172003)。Supported by Fund for Modernization of Traditional Chinese Herbs of Shanghai Municipal Government(06DE19715) and Medical Science Research Foundation of the PLA(2006172003)。

**[作者简介]** 王莹, 硕士生。

\* Corresponding author. E-mail: mlguo@smmu.edu.cn

## 2 方法和结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱:大连依利特 ODS C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%冰乙酸水溶液(B);梯度洗脱,洗脱程序:0~15 min,10%A-90%B;24 min,28%A-72%B;40~52 min,31%A-69%B;55~60 min,40%A-60%B;62 min,55%A-45%B。流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;检测器漂移管温度:40℃;载气压力:3.5 Pa;柱温:30℃。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取青葙苷 A 对照品 10 mg 和青葙苷 B 对照品 5 mg,置 1 ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取青葙子药材 10 g,粉碎,过 40 目筛,置 250 ml 锥形瓶中,加 10 倍量 50% 甲醇,浸渍 12 h。超声提取 2 次,每次 30 min。合并提取液,浓缩并用水定容于 10 ml。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液 12.5、25、50、100、200、300 μl,分别置 1 ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。对照品溶液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.1 项下色谱条件操作。以峰面积为纵坐标(Y),进样量(X, μg)为横坐标,进行线性回归。青葙苷 A 的回归方程为  $Y = 148.91X - 451.63$ ,  $r = 0.9994$ ;青葙苷 B 的回归方程为  $Y = 39.501X - 61.404$ ,  $r = 0.9993$ 。结果表明:青葙苷 A 进样量在 2.5~60.0 μg、青葙苷 B 进样量在 1.25~30.0 μg 时与峰面积线性关系良好。二者的最低检测限分别为 10 μg/ml 和 5 μg/ml。

**2.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 20 μl,重复进样 6 次,测定其峰面积。结果青葙苷 A 峰面积的 RSD 为 1.42%,青葙苷 B 峰面积的 RSD 为 1.67%。青葙苷 A 和青葙苷 B 的日间精密度分别为 3.67% 和 4.12%。

**2.6 重现性试验** 精密称取收集于安徽亳州药材市场的青葙子 10 g 共 6 份,按照 2.3 项下方法制备,依 2.1 项下色谱条件测定。结果青葙苷 A 的含量为  $(0.0978 \pm 0.0014)\%$ ,RSD 为 1.92%;青葙苷 B 的含量为  $(0.0593 \pm 0.0007)\%$ ,RSD 为 2.08%。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取收集于安徽亳州药材市场的青葙子供试品溶液(生药 1.0 mg/ml),分别在配制后 0、2、4、8、12、24 h 测定。结果青葙苷 A 峰面积的 RSD 为 1.61%,青葙苷 B 峰面积的 RSD 为 1.87%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取收集于安徽亳州药材市场的青葙子 5 g 共 6 份,分别精密加入青葙苷 A 对照品 8 mg 和青葙苷 B 对照品 4 mg,按照 2.3 项下方法制备并测定青葙苷 A 和青葙苷 B 的含量,

计算回收率。结果青葙苷 A 平均回收率为 98.37%,RSD 为 1.69% ( $n = 6$ );青葙苷 B 平均回收率为 97.46%,RSD 为 1.97% ( $n = 6$ )。

**2.9 含量测定** 取商品青葙子药材适量,按照 2.3 项下方法制备样品溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,进样 20 μl,测定结果见表 1 及图 1。

表 1 商品青葙子中青葙苷 A 和青葙苷 B 的含量

Tab 1 Contents of celosin A and celosin B in commercial *Semen celosiae* samples

( $n = 3, \bar{x} \pm s, \%$ )

Medical market	Celosin A	Celosin B
Anguo, Hebei Prov.	0.051 2±0.001 6	0.027 5±0.001 8
Nanchang, Jiangxi Prov.	0.114 3±0.000 8	0.081 5±0.000 9
Weifang, Shandong Prov.	0.070 4±0.000 2	0.048 1±0.000 5
Fuzhou, Fujian Prov.	0.054 2±0.001 6	0.010 9±0.001 9
Bozhou, Anhui Prov.	0.100 7±0.000 7	0.059 2±0.001 1
Yongzhou, Hunan Prov.	0.077 0±0.001 3	0.055 4±0.001 2
Yueqing, Zhejiang Prov.	0.057 1±0.000 7	0.018 3±0.000 6
Chongqing	0.080 1±0.000 4	0.022 4±0.000 9

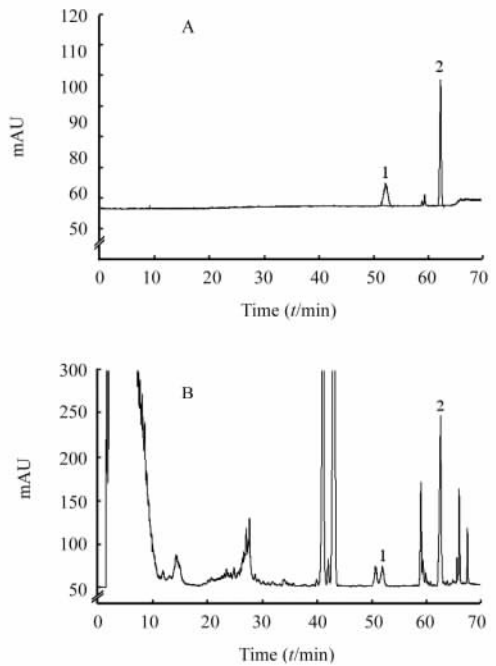


图 1 对照品和样品的色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substances and sample  
1: Celosin B; 2: Celosin A; A: Reference substances; B: Sample of Jiangxi Nanchang

## 3 讨论

本文应用 HPLC-ELSD 法建立了商品青葙子药材的含量测定方法,并首次对其中 2 个具有保肝活性的新成分青葙苷 A 和青葙苷 B 同时进行了含量测定。结果表明,8 个市售青葙子样品中青葙苷 A

和青葙苷 B 的含量存在显著差异,其含量范围分别为  $(0.0512 \pm 0.0016)\%$  ~  $(0.1143 \pm 0.0008)\%$  和  $(0.0109 \pm 0.0019)\%$  ~  $(0.0815 \pm 0.0009)\%$ 。

色谱条件等度洗脱时,青葙苷 B 未能达到基线分离,因此选用梯度洗脱。在相同的洗脱条件下,我们考察过 203 nm 和 210 nm 波长下青葙苷 A 和青葙苷 B 对照品溶液的色谱图,结果溶剂峰干扰较大,且基线产生较大漂移,故选用 ELSD 进行含量测定。由于青葙苷 A 和青葙苷 B 属于三萜皂苷,易溶于稀醇,故选用甲醇作为提取溶媒。本实验中我们分别选用 10 倍量的 20%、50% 和 70% 甲醇超声提取,结果表明 50% 甲醇提取效果最佳。

### [参考文献]

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M].

一部. 北京:化学工业出版社,2005: 137.

- [2] Hase K, Kadota S, Basnet P, et al. Hepatoprotective effects of traditional medicines. Isolation of the active constituents from seeds of *Celosia argentea* [J]. *Phytother Res*, 1996, 10: 387-392.
- [3] Hayakawa Y, Fujii H, Hase K, et al. Anti-metastatic and immunomodulating properties of the water extract from *Celosia argentea* seeds [J]. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21:1154-1159.
- [4] Vetrichelvan T, Jegadeesan M, Devi B A U. Anti-diabetic activity of alcoholic extract of *Celosia argentea* seeds in rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25:526-528.
- [5] 单俊杰,任晋玮,杨 静,等. 青葙子提取物降血糖活性的研究 [J]. *中国药学杂志*, 2005, 40: 1230-1233.
- [6] 郭美丽,薛 芊,张 戈. 一类青葙皂苷类化合物及其在医药领域的应用 [P]. 中国专利:200610026789.3 [2006-10-25].

[收稿日期] 2007-04-03

[修回日期] 2007-09-30

[本文编辑] 尹 茶

• 消 息 •

## 《军医大学学报(英文版)》(*Journal of Medical Colleges of PLA*)可在全文数据库 ScienceDirect 检索浏览

由第二、三、四军医大学及南方医科大学(原第一军医大学)合办的《军医大学学报(英文版)》是国内外公开发行的(CN 31-1002/R,ISSN 1000-1948)的医药卫生类综合性英文期刊,是中国英文版科技论文统计源期刊,并被纳入中文科技期刊数据库、中国期刊网、万方数据库,已被美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、波兰《哥白尼索引》等检索系统收录。

从 2007 年开始,本刊电子版由全球著名的科技出版集团爱思唯尔(Elsevier)负责海外发行。目前,期刊全文已进入 ScienceDirect 全文数据库,期刊网址 <http://www.elsevier.com/locate/jmcpla>。ScienceDirect(SD)是全球市场占有率最高的科技与医学期刊全文出版平台之一,其上的论文具有和其他世界主流在线科技与医学期刊的“引用文献”及“被引用文献”的链接功能。本刊进入 SD 全文数据库,不仅可增加刊登论文的可见度和被引频次,帮助作者了解所做工作被国际同行的关注程度,也有助于期刊不断提高学术质量。编辑部热忱欢迎生物医药领域的学者踊跃投稿。地址:上海市翔殷路 800 号《军医大学学报》编辑部。邮编:200433。电话:021-25074340-818。E-mail: [jydxxb@yahoo.com.cn](mailto:jydxxb@yahoo.com.cn)。

The screenshot shows the ScienceDirect website interface. At the top, there is a navigation bar with 'Home', 'Browse', 'Search', 'My Settings', 'Alerts', and 'Help'. Below this is a search bar with 'Quick Search' and fields for 'Title, abstract, keywords', 'Author', 'Journal/book title', 'Volume', 'Issue', and 'Page'. The main content area displays the journal information for 'Journal of Medical Colleges of PLA', including the copyright notice 'Copyright © 2007 Editorial Board of Journal of Medical Colleges of PLA. E-dition published by Elsevier (Singapore) Pte Ltd. All rights reserved.' and a shortcut URL 'http://www.sciencedirect.com/science/journal/10001948'. There are also options to 'Alert me about new Journal Issues', 'Add to Favorites', and 'Apply'. The article list section shows 'Volume 22, Issue 3, Pages 131-194 (June 2007)' and a list of articles, with the first article being 'Changes of evoked potential and expression of nestin in subventricular zones in rats after focal cerebral ischemia' by Jie GAO, Yong-tang WANG, Li-li WANG, Ling ZENG, Ya-min WU and Yang SHAO.