

# 紫外分光光度法测定虎杖中白藜芦醇的含量

郑湘娟<sup>1</sup>, 余淑娴<sup>1</sup>, 徐晓芳<sup>2</sup>, 万南红<sup>1</sup>, 李玉琳<sup>1</sup>, 张小强<sup>1</sup>

(1. 南昌大学理学院, 江西 南昌 330031; 2. 南昌大学信息工程学院, 江西 南昌 330031)

**摘要:**目的 建立虎杖提取物中白藜芦醇含量的测定方法。方法 采用紫外分光光度法, 测定波长为 305 nm。结果 检测浓度在 3~16 μg/ml 范围内与吸光度线性关系良好( $r=0.9990$ )。结论 该方法简便、快速、准确, 可作为提取过程中的实时监测。

**关键词:**虎杖; 白藜芦醇; 紫外分光光度法

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2008)08-1881-01

## Determination of Resveratrol in *Polygonum cuspidatum* by UV Spectrophotometry

ZHENG Xiang-juan<sup>1</sup>, YU Shu-xian<sup>1</sup>, XU Xiao-fang<sup>2</sup>, WAN Nan-hong<sup>1</sup>, LI Yu-lin<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-qiang<sup>1</sup>

(1. School of Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 2. School of Information Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

**Abstract:** Objective To establish the determination method for resveratrol in extract of *Polygonum cuspidatum*. Methods UV spectrophotometry was adopted with a detection wavelength of 305 nm. Results There was good linear relation ship with in the range of 3~16 μg ( $r=0.9990$ ). Conclusion The method is simple, rapid, accurate.

**Key words:** *Polygonum cuspidatum*; Resveratrol; UV spectrophotometry

虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sied. et Zucc. 又名斑根紫金龙、活血龙、阴阳莲<sup>[1]</sup>, 其根茎具有活血定痛、清热利湿、止咳化痰作用。主要用于关节麻痺、湿热黄疸、经闭、咳嗽痰多、水火烫伤、跌打损伤等症的治疗<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明其主要有效活性成分白藜芦醇具有抗癌、抗氧化、抗血小板凝聚、抗菌、调节脂类代谢等多种功能。目前定量检测白藜芦醇的方法主要有高效液相色谱法(HPLC)<sup>[3]</sup>、气相色谱/质谱法(GC/MS)<sup>[4]</sup>以及气相色谱法(GC)<sup>[5]</sup>等。国内还未见有关用紫外分光光度法测定虎杖中白藜芦醇含量的报道。本实验应用紫外分光光度法测定了虎杖提取液中白藜芦醇含量。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 Gold S54 紫外可见分光光度计(上海棱光技术有限公司); AB204-N 电子天平(Mettler-Toledo 设备有限公司); FC-160 型锤式粉碎机(上海中药机械厂制造)。

1.2 试剂 虎杖药材购自江西省药材公司(产地江西樟树), 经江西医学院冯江教授鉴定为正品虎杖, 白藜芦醇对照品由中国药品生物制品检验所提供, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥恒重的白藜芦醇对照品 5.4 mg, 于 50 ml 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得到 0.108 mg·ml<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 准确称量细块状虎杖 10.0 g, 加 10 倍量的水, 在沸腾状态下提取 180 min, 提取 1 次, 冷却后将提取液过滤, 滤液定容至一定体积, 即为供试样品液。精密称取一定量试液于 50 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 测定波长的选择 将白藜芦醇对照品和供试品溶液按实验方法操作, 在 200~500 nm 进行波长扫描。结果表明, 对照品和供试品溶液均在 305 nm 处有最大吸收, 且两者光谱形状极为相似, 满足分光光度法测定的基本要求。因此, 选定 305 nm 作为测定波长。

2.4 标准曲线的绘制 分别精密吸取“2.1”项下对照品溶液 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 ml 各置于 10 ml 容量瓶中, 以甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得浓度分别为 0, 3.24, 6.48, 9.72, 12.96, 16.20 μg/ml 的对照品溶液。以甲醇做参比, 分别测定 305 nm 吸光度, 以吸光度(A)对浓度(C)进行线性回归, 得回归方程  $A = 0.13427C + 0.04859$  ( $r=0.9990$ )。结果表明, 白藜芦醇检测浓度在 3~16 μg/ml 范围内与吸光度线性关系良好。见表 1 及图 1。

表 1 白藜芦醇标准溶液的浓度与吸光度

吸光度 A	浓度 C/μg·ml <sup>-1</sup>
0.000	0.00
0.514	3.24
0.936	6.48
1.366	9.72
1.750	12.96
2.224	16.20

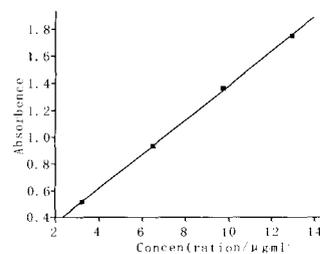


图 1 白藜芦醇的标准曲线图

2.5 重复性实验 取同一批虎杖样品, 精密称取 4 份, 按“2.2”项下方法分别制备成 4 份供试品溶液。在 305 nm 下分别测定其吸光度并计算白藜芦醇的含量。结果(见表 2)表明, 4 份提取液中白藜芦醇的平均含量为 1.46%,  $RSD = 2.41\%$  ( $n=4$ )。

表 2 白藜芦醇含量测定结果

虎杖样品	质量 m/g	浓度 C/mg·ml <sup>-1</sup>	百分含量 (%)	平均值 (%)
1	10.0307	0.855	1.44	1.46
2	10.0439	0.829	1.47	
3	10.0034	0.855	1.50	
4	10.0240	0.783	1.42	

收稿日期: 2007-09-27; 修订日期: 2007-11-18

基金项目: 江西省教育厅科技计划项目(No. [2006]48号)

作者简介: 郑湘娟(1977-), 女(汉族), 吉林公主岭人, 现任南昌大学理学院基础化学实验中心助教, 硕士学位, 主要从事中药化学成分分离和检测的研究工作。

2.6 回收率实验 采用加样回收法,精密吸取已知含量为3.32  $\mu\text{g}/\text{ml}$  虎杖提取液 2 ml 于 25 ml 容量瓶中,加入 3.24  $\mu\text{g}/\text{ml}$  对照品溶液 2 ml,各 4 份,用甲醇稀释至刻度,摇匀,测定吸光度,计算回收率。结果得到平均回收率为 98.8%,RSD 为 1.35%。

### 3 小结

本实验建立了紫外分光光度法测定虎杖提取物中白藜芦醇的方法。实验表明,本法具有操作简单、速度快、准确度高的优点。其加样回收率和重复性均较好,可作为一种虎杖提取液中白藜芦醇含量测定的方法。

### 参考文献:

[1] 苏文强,杨磊,朱明华,等. 中压柱层析法分离白藜芦醇的研究

[J]. 林产化学与工业,2004,24(1):40.

- [2] 江海燕,朱华,黄慧学,等. 炮制对虎杖中白藜芦醇苷和大黄素的影响[J]. 中草药,2003,34(3):412.
- [3] 杨红美,陈波,曾建国,等. HPLC 同时测定虎杖及其提取物中 4 种有效成分的含量[J]. 中国中药杂志,2006,31(3):202.
- [4] 马亭,李攻科,李晓东,等. 葡萄酒中白藜芦醇的固相萃取 GC/MS 法测定及其生理活性的初步研究[J]. 高等学校化学学报,2000,20(7):1023.
- [5] 于贞,张影陆,赵光鑫. 葡萄酒中白藜芦醇的分析[J]. 工业微生物,2001,31(4):34.

## 竹节参总皂苷对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜细胞增殖抑制作用的研究

袁丁,顿耀艳,张长城\*

(三峡大学医学院,湖北宜昌 443002)

**摘要:**目的 研究竹节参总皂苷(TSPJ)对胶原诱导性关节炎大鼠滑膜细胞增殖的影响。方法 酶消化法进行胶原诱导性关节炎大鼠滑膜细胞的原代培养,MTT 法检测 TSPJ 对滑膜细胞增殖的影响,流式细胞仪检测 TSPJ 对滑膜细胞凋亡率的影响。结果 TSPJ 可明显抑制体外培养的 CIA 大鼠滑膜细胞的增殖,TSPJ 可诱导滑膜细胞凋亡。结论 TSPJ 可有效抑制体外培养的胶原诱导性关节炎大鼠滑膜细胞的增殖,这可能是其治疗类风湿性关节炎的机制。

**关键词:**竹节参总皂苷; 类风湿性关节炎; 滑膜细胞; 细胞凋亡

中图分类号:R593.22 文献标识码:A 文章编号:1008-0805(2008)08-1882-02

### Inhibitory Effect of Total Saponins of *Panax japonicus* on the Proliferation of Synoviocytes in Collagen - induced Arthritis Rats

YUAN Ding, DUN Yao-yan, ZHANG Chang-cheng\*

(Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

**Abstract:** Objective To investigate the effects of total Saponins of *Panax japonicus* on the proliferation and apoptosis of synoviocytes in collagen - induced arthritis rats *in vitro*. Methods Primary synoviocytes were cultured by enzymatic digestion. Synoviocytes were incubated with various concentrations of total saponins of *Panax japonicus* for 48 hours. Synoviocytes proliferation was determined by MTT colorimetric assay. The apoptosis rate of synovial cells was examined by flow cytometer. Results Total saponins of *Panax japonicus* had marked dose - dependent inhibitory effects on synovial cell proliferation. Apoptosis rate was increased with the elevation of concentration of total saponins of *Panax japonicus*. Conclusion The results of this study suggest that the total saponins of *Panax japonicus* has remarkable suppressive effects on proliferation of synoviocytes of CIA rats *in vitro*. This may be the mechanism of RA treatment.

**Key words:** Total saponins of *Panax japonicus*(TSPJ); Rheumatoid arthritis; Synoviocytes; Apoptosis

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎为主要特征的自身免疫性疾病,其关节滑膜细胞功能的改变直接影响病理进程。在多种炎性因子的刺激下,关节滑膜细胞肿瘤样无限增生,对关节软骨、骨造成进行性破坏,最终导致关节畸形和功能障碍。因此,对关节滑膜细胞的保护在治疗中具有重要意义。竹节参 *Rhizoma of Panax japonicus* 系五加科人参属植物竹节参的干燥呈竹鞭状根茎,民间常用其治疗病后虚弱、风湿痹证、筋骨疼痛、虚损劳伤等疾患<sup>[1]</sup>。研究表明竹节参主要活性成分为

皂苷类<sup>[2]</sup>。本研究竹节参总皂苷体外对胶原诱导性关节炎(collagen - induced arthritis, CIA)大鼠滑膜细胞增殖的影响,并检测滑膜细胞凋亡率的变化,来探讨竹节参总皂苷对类风湿性关节炎的可能作用。

#### 1 材料

1.1 药物 竹节参采于湖北省宜昌五峰山区,经鉴定为五加科人参属植物竹节参的根茎,洗净,晒干,打成粗粉。

1.2 动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠,体重 110 ~ 125g,由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供,许可证 SCXK(鄂)2004 - 0007。

1.3 试剂 牛 II 型胶原,Chondrex 公司产品;不完全弗氏佐剂和 EDTA 为 Sigma 公司产品;胰蛋白酶, Difco 公司进口分装; I 型胶原酶、四甲基偶氮唑蓝(MTT)及二甲基亚砜(DMSO)均为 Amresco 公司产品;胎牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司产品;PRMI - 1640 培养基和 Vybrant Apoptosis Assay Kit #4 为 In-

收稿日期:2007-08-28; 修订日期:2007-10-26

基金项目:湖北省卫生厅 2005 - 2006 年度科研基金项目(No. JX2B75)

作者简介:袁丁(1964-),男(民族),湖北宜昌人,现任三峡大学医学院副教授,硕士学位,主要从事中药药理学工作。

\*通讯作者简介:张长城(1973-),男(汉族),湖北长阳人,现任三峡大学医学院副教授,博士学位,主要从事中药药理学及中医男科学工作。