

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.09.004

新疆红花药用资源调研及质量品质评价*

孙宇宏,肖功胜,孙宝平,许刚,马久太[△]

(陕西步长制药有限公司,陕西 西安 710075)

摘要:目的 考察新疆地区不同产地、品种的红花药材的质量品质。方法 以羟基红花黄色素 A、山柰素含量及指纹图谱相似度为评价指标,对 99 批红花样品进行品质评价及地域聚类性分析。结果与结论 伊犁州及塔城地区的红花样品中羟基红花黄色素 A 及山柰素含量高于新疆其他地区,不同地域采集点收集的红花样品中化合物指纹图谱聚类的区域差异不明显。

关键词:红花;资源调研;品质评价;新疆维吾尔自治区

中图分类号:R932;R282.71;R284.1

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)09-0013-05

Investigation and Quality Evaluation on Medicinal Resources of *Carthamus Tinctorius* in Xinjiang Uygur Autonomous Region

SUN Yuhong, XIAO Gongsheng, SUN Baoping, XU Gang, MA Jiutai

(Shaanxi Buchang Pharmaceuticals Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi, China 710075)

Abstract: **Objective** To investigate the quality of *Carthamus tinctorius* from different origins in Xinjiang Uygur Autonomous Region. **Methods** The quality of 99 batches of *Carthamus tinctorius* samples was evaluated and their geographical clustering was analyzed with the content of hydroxysafflor yellow A, the content of kaempferia, and the similarity of chromatographic fingerprint as the evaluation indexes. **Results and Conclusion** The content of hydroxysafflor yellow A and kaempferol in *Carthamus tinctorius* collected from Ili Kazak Autonomous Prefecture and Tacheng Prefecture was higher than that in the other regions of Xinjiang Uygur Autonomous Region. There was no significant regional difference in the clustering of compound fingerprints in *Carthamus tinctorius* samples collected from different regions.

Key words: *Carthamus tinctorius*; resources investigation; quality evaluation; Xinjiang Uygur Autonomous Region

*基金项目:陕西省科技统筹创新工程计划项目[2016KTTSSF01-02]。

第一作者:孙宇宏,男,博士研究生,工程师,研究方向为中药质量控制,(电话)029-88318318(电子信箱)852588165@qq.com。

[△]通信作者:马久太,男,大学本科,主任药师,研究方向为中药大品种二次开发,(电子信箱)13571005216@163.com。

各提取单因素对盐肤木中总鞣质提取率的影响,响应面法模拟回归方程及方差结果显示,液料比、提取温度、提取时间、液料比的二次方项、提取时间的二次方项、提取温度的二次方项,以及乙醇浓度与提取温度、提取温度与提取时间的交互作用对盐肤木中总鞣质提取率的影响具有显著性,表明各单因素在盐肤木中总鞣质的提取率存在非线性关系,即存在交互作用,各单因素影响盐肤木总鞣质提取的顺序为料液比>提取时间>提取温度>乙醇浓度。优化得总鞣质最佳提取条件为乙醇浓度(因素 A)70%,液料比(因素 B)20.71:1,提取温度(因素 C)60℃、提取时间(因素 D)72.57 min。该方法快速、简单、准确,为盐肤木的总鞣质的提取开发提供了参考。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第45卷)[M]. 北京:科学出版社,1999:100.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:67.
- [3] 任雪峰,吴冬青,林敏,等. 响应面法优化款冬花总鞣质提取工艺的研究[J]. 食品工业科技,2012,33(16):292-295.
- [4] 古丽美克热依·吐尼亚孜,古力齐曼·阿布力孜,努尔皮达·阿

卜拉江,等. 响应曲面法优化新疆野蔷薇根中总鞣质的提取工艺[J]. 新疆师范大学学报(自然科学版),2015,34(4):11-17.

- [5] 陈丹妮,秦昆明,陈林伟,等. 响应面法优化五倍子总鞣质的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(14):20-24.
- [6] 吴献,徐章文,谢丽欢,等. 盐肤木的化学成分及抗氧化活性研究[J]. 药学研究,2019,38(1):1-7.
- [7] TAN D, YAN QX, MA XJ. Chemical constituents of *Rhus chinensis*[J]. Chemistry of Natural Compounds,2015,51(3):542-543.
- [8] 高洁莹,樊力民,刘平安,等. 盐肤木属植物研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(8):215-218.
- [9] 高洁莹. 盐肤木果粕成分研究[D]. 长沙:湖南中医药大学,2015.
- [10] 顾琼. 五种药用植物化学与抗 HIV 成分研究[D]. 昆明:中国科学院昆明植物研究所,2007.
- [11] 李加林,吴素珍,卓占宇. 盐肤木总黄酮提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(5):1116-1117.
- [12] 陈存武,张莉,何晓梅,等. 盐肤木总黄酮的提取研究[J]. 湖南农业科学,2010(13):119-122.
- [13] 叶永华,张双,游立群,等. 福林酚法测定闽产盐肤木根茎中总酚酸的含量[J]. 福建中医药,2018,49(2):66-67.

(收稿日期:2019-01-05)

红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,具有活血通经等药用功效^[1]。新疆地理位置和气候条件独特,是我国红花种植主要产区,20世纪80年代,新疆区域内种植的红花产量占全国市场份额的80%^[2]。新疆红花的种植区域主要集中在天山北麓的吉木萨尔、奇台及新疆西北部塔城、伊犁等地区,红花主要种植品种包括吉红一号及二号、裕民无刺等^[3-4]。

本研究中通过对在新疆范围不同采集点收集的99批次的红花样品进行单指标化学成分考察(羟基红花黄色素A、山柰素)及指纹图谱相似度聚类分析,对新疆红花药用资源进行全方位系统评价,为新疆红花品质控制、中药材生产质量管理规范(GAP)种植基地建设等红花资源开发奠定重要基础。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪(包括 Waters PDA eλ 二极管阵列检测器,Empower 色谱工作站);MB45 型快速水分测定仪、DV215CD 型电子分析天平(梅特勒-托利多国际贸易<上海>有限公司);UPT-Ⅱ-100L 型超纯水仪(上海优谱实业有限公司)。

1.2 试剂

山柰素对照品(批号为110861-201209),羟基红花黄色素A对照品(批号为111637-201308),芦丁对照品(批号为100030-200707),均购于中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯,水为高纯水,其他试剂均为分析纯;红花样品采集自新疆全境33个自然村地理位点,每个地点采集3批次样品,共采集99批次,经陕西中医学院胡本祥教授鉴定为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花。

2 方法与结果

2.1 样品收集

由于新疆地区红花采用自种种植,在实地采样中,种植户对红花品种不能进行系统描述,加之红花品种在外观不易区分,造成收集样品品种信息不全,故该研究主要对红花产地进行考察。红花样品采集点地理信息见图1及表1,囊括了新疆红花产区中的伊犁州(9个自然村)、塔城地区(9个自然村)、昌吉州(12个自然村)及乌鲁木齐市周边(3个自然村),东西跨度500 km,南北跨度350 km。样品均通过手工采集,自然晾干,集中编号后,自封袋密闭包装后放入阴凉留样室避光保存备用。

2.2 羟基红花黄色素A含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

按2015年版《中国药典(一部)》红花项下羟基红花黄色素A含量测定方法进行分析。色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:25℃;流动



图1 红花样品采集点地理分布图

表1 红花样品地理信息及样品状态

序号	采集点行政区划	自然村	批次	样品状态
1	乌鲁木齐市米东区	铁厂沟镇八家户村	3	自然晾晒
2	乌鲁木齐市米东区	铁厂沟镇天山村	3	自然晾晒
3	乌鲁木齐市水磨沟区	石人子沟村	3	自然晾晒
4	伊犁州霍城县	清水河镇城西一村	3	自然晾晒
5	伊犁州霍城县	清水河镇清水河村	3	自然晾晒
6	伊犁州霍城县	清水河镇清泉村	3	自然晾晒
7	伊犁州霍城县	芦草沟镇西宁庄村	3	自然晾晒
8	伊犁州霍城县	芦草沟镇西卡子村	3	自然晾晒
9	伊犁州霍城县	芦草沟镇别什阿孜什村	3	自然晾晒
10	伊犁州霍城县	三宫回族乡上三宫村	3	自然晾晒
11	伊犁州霍城县	三宫回族乡东湾村	3	自然晾晒
12	伊犁州霍城县	三宫回族乡下三宫村	3	自然晾晒
13	塔城地区裕民县	江格斯乡吉兰德村	3	自然晾晒
14	塔城地区裕民县	江格斯乡塔斯提布拉克村	3	自然晾晒
15	塔城地区裕民县	江格斯乡塔勒德布拉克村	3	自然晾晒
16	塔城地区裕民县	哈拉布拉克乡北哈拉布拉克村	3	自然晾晒
17	塔城地区裕民县	哈拉布拉克乡霍斯哈巴克村	3	自然晾晒
18	塔城地区裕民县	哈拉布拉克乡南哈拉布拉克村	3	自然晾晒
19	塔城地区裕民县	新地乡新地南村	3	自然晾晒
20	塔城地区裕民县	新地乡木乎尔一村	3	自然晾晒
21	塔城地区裕民县	新地乡新地北村	3	自然晾晒
22	昌吉州吉木萨尔县	三台镇老庄湾村	3	自然晾晒
23	昌吉州吉木萨尔县	三台镇八家地村	3	自然晾晒
24	昌吉州吉木萨尔县	三台镇东地村	3	自然晾晒
25	昌吉州吉木萨尔县	庆阳湖乡东庆村	3	自然晾晒
26	昌吉州吉木萨尔县	庆阳湖乡二工梁村	3	自然晾晒
27	昌吉州吉木萨尔县	庆阳湖乡西庆村	3	自然晾晒
28	昌吉州吉木萨尔县	老台乡老台村	3	自然晾晒
29	昌吉州吉木萨尔县	老台乡老湖村	3	自然晾晒
30	昌吉州吉木萨尔县	老台乡西地村	3	自然晾晒
31	昌吉州奇台县	半截沟镇老葛根村	3	自然晾晒
32	昌吉州奇台县	半截沟镇半截沟村	3	自然晾晒
33	昌吉州奇台县	半截沟镇中葛根村	3	自然晾晒

相:甲醇-乙腈-0.7%磷酸溶液(26:2:72);检测波长:403 nm。理论板数按羟基红花黄色素A峰计算应不低于3 000^[5]。

2.2.2 溶液制备

对照品溶液:取羟基红花黄色素 A 对照品,精密称定,加 25% 甲醇制成每 1 mL 含 0.13 mg 的溶液,摇匀,即得。

供试品溶液:取收集的 99 批次红花样品,粉碎,粉末过 3 号筛,称取上述粉末各 0.4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 25% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理(功率为 300 W,频率为 50 kHz)40 min,放冷,再称定质量,用 25% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 样品含量测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定。结果见图 2 和图 3。可见,本研究中收集到的 33 个种植区的 99 批样品中羟基红花黄色素 A 含量具有一定区域性,位于新疆西部的伊犁州和塔城地区的红花样品中羟基红花黄色素 A 的含量高于东部乌鲁木齐及昌吉产区的样品。

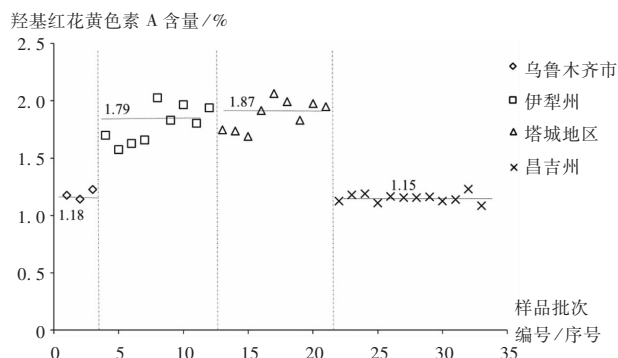


图 2 不同采集地红花样品羟基红花黄色素 A 区域特征图

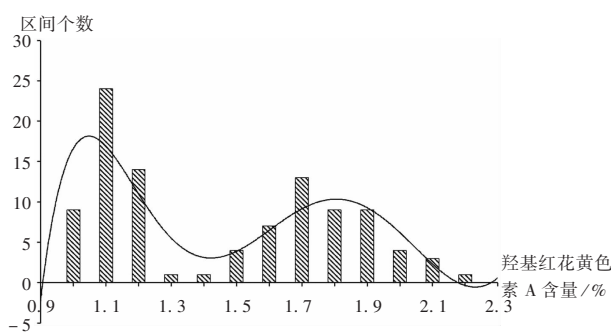


图 3 不同采集地红花样品羟基红花黄色素 A 含量分布图

2015 年版《中国药典》中要求红花药材中的羟基红花黄色素 A 含量不少于 1.0%。由图 3 可见,99 批次样品中羟基红花黄色素 A 含量为 1.1% 的样品个数最多,且不同采集点收集的 99 批次红花样品的羟基红花黄色素 A 含量均不低于《中国药典》要求。

2.3 山柰素含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);柱温:25 $^{\circ}$ C;流动相:甲醇-0.4% 磷酸溶液(52:48);检测波长:367 nm。理论板数按山柰素峰计应不低于 3 000^[5]。

2.3.2 溶液制备

对照品溶液:取山柰素对照品,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 9 μ g 的溶液,摇匀,即得。

供试品溶液:取收集的 99 批次红花样品,粉碎,粉末过 3 号筛,称取上述粉末各 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 30 min。放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 15 mL,置平底烧瓶中,加盐酸溶液 5 mL,摇匀,置水浴中加热水解 30 min,立即冷却,转移至 25 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 样品含量测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定。不同产地红花样品的山柰素测定结果见图 4 和图 5。可见,33 个采集点的红花样品中的山柰素含量同样具有区域性,位于新疆西部的伊犁州和塔城地区的红花平均含量较高(分别为 0.074% 和 0.069%),昌吉州次之(0.061%),最低的为乌鲁木齐市周边收集的红花样品(平均含量为 0.056%)。

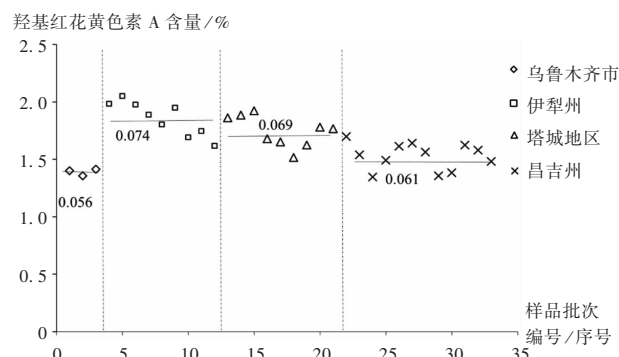


图 4 不同采集地红花样品山柰素区域特征图

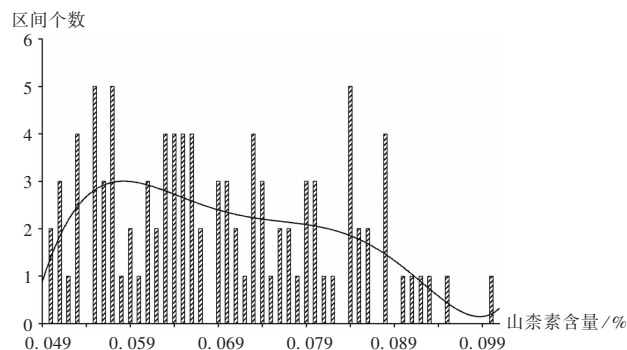


图 5 不同采集地红花样品山柰素含量分布图

由图 5 可见,99 批次样品中山柰素含量为 0.054% ~ 0.059% 的样品较集中,根据 2015 年版《中国药典(一部)》红花含量测定项下的山柰素含量要求不少于 0.050%,有少量红花样品的山柰素含量低于《中国药典》的要求。

2.4 不同产地红花指纹图谱相似度比较及聚类分析

2.4.1 色谱条件

色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm $\times$

4.6 mm, 5 μ m); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 流动相: 乙腈为流动相 A, 0.05% 三氟乙酸溶液为流动相 B, 按表 2 中的程序进行梯度洗脱; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 检测波长: 288 nm。

表 2 红花指纹图谱测定流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	2	98	60	20	80
20	5	95	80	2	98
30	10	90	90	2	98

2.4.2 指纹图谱绘制

对照品溶液: 以红花羟基黄色素 A、芦丁作为参照物, 取红花羟基黄色素 A 及芦丁对照品适量, 用乙腈稀释成质量浓度为 30 mg/L 的对照品溶液。

供试品溶液: 取收集的 99 批次红花样品, 粉碎, 粉末过 3 号筛, 称取上述粉末各 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水 50 mL, 称定质量, 加热回流 90 min。放冷, 再称定质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加 1 mL 甲醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得供试品溶液。

指纹图谱绘制: 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μ L, 进样测定。特征色谱图见图 6, 在拟订色谱条件下, 出峰较多, 采用对照品溶液确认其中已知成分, 包括芦丁及羟基红花黄色素 A。比较各批样品的色谱图, 确定共有峰 23 个, 共有指纹峰的峰面积占总峰面积的 90% 以上。羟基红花黄色素 A 为红花中的主要成分之一, 可见羟基红花黄色素 A 的色谱峰峰位居中, 峰面积所占比例较大且稳定, 故选择该化合物为内参照物, 确定羟基红花黄色素 A 的色谱峰为内参照峰。

2.4.3 方法学考察

精密度试验: 取供试品(八家户村)溶液, 连续进样

5 次。结果各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.4% ~ 1.1%, 0.5% ~ 2.7% ($n=5$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取供试品(天山村)适量, 精密称定, 按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液, 连续进样 5 次。结果各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.1% ~ 1.1%, 0.2% ~ 1.4% ($n=5$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 取同一供试品(石人子沟村)溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 时进样。结果各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 5.0% ($n=6$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.4.4 相似度考察

将所得色谱图采用中药色谱指纹图谱相似度评价软件 2004 版(国家药典委员会)进行数据处理, 将 33 批次红花样品色谱图进行校正匹配并比较, 生成全面反映多个色谱特征的对照色图谱(图 7), 并以此模式为基准, 计算每个色谱图与之的相似度, 若相似度小于 0.9 则表示不同采集地的红花样品物质成分构成差异较大。

2.4.5 聚类分析

对 33 个不同采集地的红花样品进行指纹图谱分析, 发现红花羟基黄色素 A、芦丁在内的 23 个色谱峰, 将各色谱峰相对于参比峰的峰面积量化, 得 33 $\times$ 23 阶原始数据矩阵, 由 SPSS 16.0 统计学软件进行聚类分析, 采用离差平方和法(Ward's method), 并利用欧氏距离(Euclidean)作为样品的测度, 聚类谱系图见图 8。聚类分析将 33 个不同地域采集地的红花药材分为三类, 其中伊犁区域种植的红花分为一类, 而其他两类则分布于塔城及昌吉区域。结果显示, 新疆红花药材分布复杂, 其化学成分的区域性不明显。

3 讨论

红花植物体内羟基红花黄色素 A 及山柰素合成路径是一个庞大的系统, 其中涉及合成路径中的关键酶、

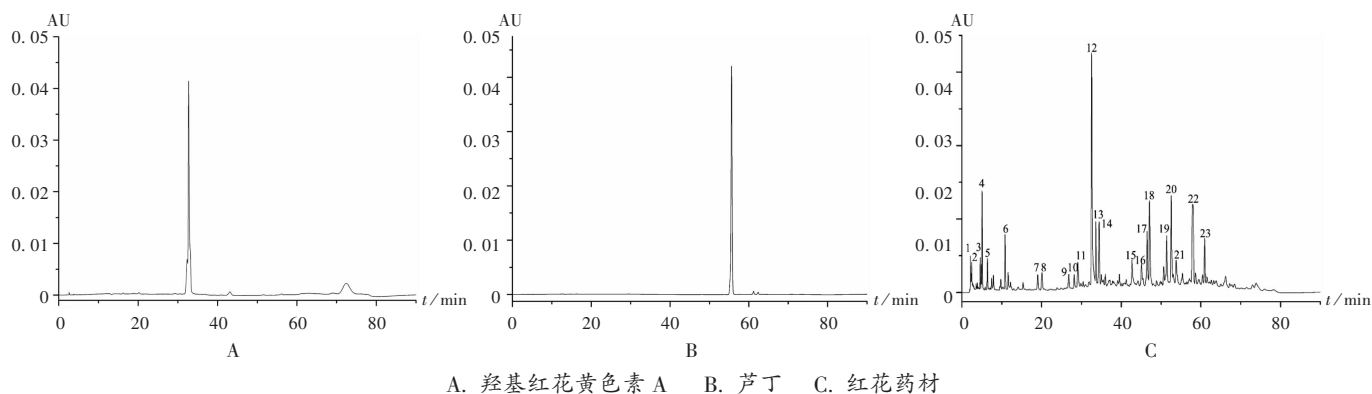


图 6 红花指纹图谱特征色谱图

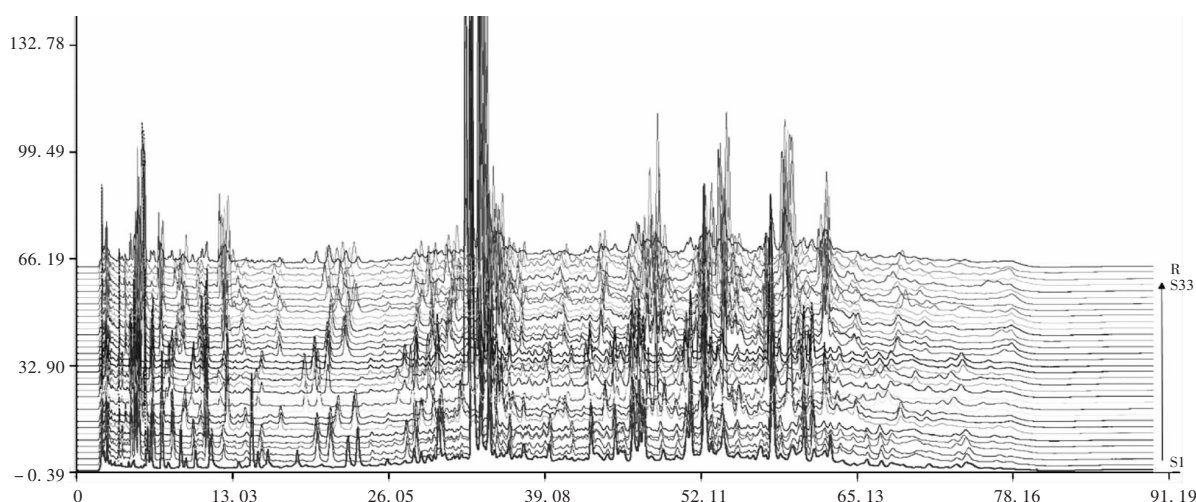


图7 不同采集地红花样品指纹图谱比较

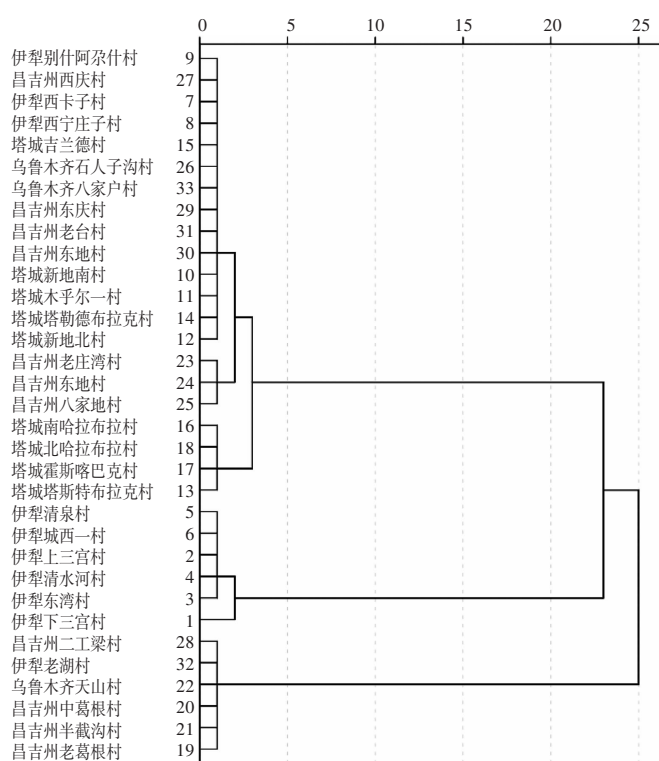


图8 不同采集地红花指纹图谱的聚类谱系图

调控基因及环境因子等^[6],有研究发现,黄酮类化合物在红花中的累积具有明显的规律,在不同花期进行采摘,红花中上述物质的含量亦不尽相同^[7-8]。

可见,不同气候及土壤特点和农户的采摘习惯导致了在33个采集点收集的红花样品主要化学成分羟基红花黄色素A及山柰素具有一定的区域性特征,位于塔城及伊犁地区的红花样品中上述化合物的含量高于其他地区。

由于红花特有的品种遗传属性,决定了来源于不同地区红花药材的内在化学品质特征存在一定差异,张戈等^[9]对30余个红花品种的活性成分积累变化规律的研究

结果表明,红花不同品种在活性成分积累量等方面存在差异主要由遗传因素决定,环境因素的影响居次要地位。

在对33个不同采集地收集的红花样品进行指纹图谱的测定及指纹图谱相似度聚类分析结果显示,不同采集点收集的红花样品中化合物指纹图谱聚类地域性差异不明显,这主要是由于新疆的红花种植主要通过自种繁殖,尽管不同地域间气温等环境因素存在差异,但不同地域之间种植种类互有交叉,导致地区间红花植株间遗传及化合物构成差异不明显。

参考文献:

- [1] 徐如英,童树洪. 红花的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药业,2010,19(20):86-87.
- [2] 陆爽,张霞,谭勇,等. 北疆栽培红花土壤微生物数量及其影响因子分析[J]. 土壤通报,2011,42(5):1093-1098.
- [3] 朱明娟. 新疆红花的研究进展及发展前景[J]. 科技信息,2008(25):27.
- [4] 王建勋. 新疆红花及其主要品种简介[J]. 特种经济动植物,2006,9(2):25-26.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:115.
- [6] TANG J, LOU Z, WANG Y, et al. Expression of a small heat shock protein screened by cDNA-AFLP approach is correlated with hydroxyl-safflower yellow A in safflower (*Carthamus tinctorius* L.)[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2010,38(4):722-730.
- [7] 康亚兰,裴瑾,刘薇,等. 红花查尔酮合成酶基因的克隆,生物信息学分析及表达[J]. 中草药,2014,45(16):2385-2389.
- [8] 田兰,吴桂荣,王岩. 新疆塔城地区额敏县红花的品质研究[J]. 中国药业,2007,16(1):5-7.
- [9] 张戈,郭美丽,李颖,等. 不同品种红花黄酮类成分的HPLC含量测定及其遗传稳定性研究[J]. 中草药,2004,35(35):1411-1414.

(收稿日期:2018-08-23)