

新疆裕民华卫红花 GAP 基地红花采收时间的研究

周铁梅, 翟晓茹, 刘永江, 张燕*, 张红兵, 李永东 (中国辐射防护研究院华卫药业, 山西太原 030006)

摘要 [目的]确定新疆裕民华卫红花 GAP 基地红花的最佳采收时间。[方法]采用 HPLC 法对 2008~2010 年红花采收期内 5 个不同时段采收的红花中羟基红花黄色素 A、山奈素含量进行测定, 并对指纹图谱进行分析。[结果]采收时间对红花中羟基红花黄色素 A、山奈素含量及指纹图谱无明显影响。[结论]红花在采收期 1 d 内任一时间进行采收, 对红花质量无明显影响, 可以在红花 GAP 基地生产中进行推广应用。

关键词 新疆; 红花; 采收时间; 羟基红花黄色素 A; 山奈素

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)10-04316-02

Research of the Collecting Time of Safflower in Huawei GAP Base of Yumin County, Xinjiang

ZHOU Tie-mei et al (Huawei Pharmaceutical Company of China Institute for Radiation Protection, Taiyuan, Shanxi 030006)

Abstract [Objective] To study optimum collecting time for *Carthamus tinctorius* in Huawei GAP base of Yumin County, Xinjiang. [Method] HPLC method was adopted to determine Hydroxysafflor yellow A and Kaempferide content in *C. tinctorius* collecting from 5 different periods during 2008-2010, the finger-print was analyzed. [Result] Collecting time has no obvious effects on Hydroxysafflor yellow A and Kaempferide content in *C. tinctorius* and finger-print. [Conclusion] The quality of *C. tinctorius* collected in any time within one day has no significant effect, which can be applied in *C. tinctorius* GAP base.

Key words Xinjiang; *Carthamus tinctorius* L.; Collecting time; Hydroxysafflor yellow A; Kaempferide

红花(FLOS CARTHAMI)为菊科(Asteraceae)植物红花(*Carthamus tinctorius* L.)的干燥花^[1]。红花别名草红花,为1~2年生草本植物,在我国已有2 100多年的栽培与用药历史^[2]。其性温,味辛,主要含色素、黄酮类化合物、酚酸、脂肪酸、挥发油、多炔及其他成分,具有活血通经和散瘀止痛的功效^[3-4]。现代医学认为,红花可以抗凝、防栓、扩张血管,能有效防治心脑血管疾病^[5-7]。我国主产区在新疆,其次为四川、云南等省^[8]。由于不同栽培居群和不同产地的红花药材质量不稳定^[9-12],同时,亦影响到红花注射液制剂的质量稳定性及均一性。华卫药业有限公司在新疆裕民县建立红花GAP基地,对于保证红花药材质量以及红花注射液的疗效具有重要意义。

关于红花采收时间的研究,国内文献报道较多。赵小磊等研究认为以早晨8时前采摘为宜^[13]。王林等认为民间沿袭的天亮时分采收较好^[14]。郭美丽等认为,红花在花蕾开放后第3天早晨采收最佳^[15-16]。田兰等认为红花的最佳采收时间是花开后的第3、4天清晨^[17]。为了弄清新疆裕民红花GAP基地近万亩种植区域的最佳采收时间,笔者采用HPLC法对新疆裕民县红花GAP基地不同时段采集的红花药材中羟基红花黄色素A、山奈素含量及指纹图谱进行分析,以期确定为基地生产中红花的采收时间提供科学依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 研究对象。红花,来源于新疆裕民县华卫红花科技有限责任公司的红花GAP基地的同一地块,试验田面积为2 001

m²,种植、管理条件一致。

1.1.2 主要仪器。安捷伦1100型高效液相色谱仪、VWD检测器和安捷伦1100色谱工作站,均购自安捷伦公司。

1.1.3 主要试剂。羟基红花黄色素A及山奈素对照品,购自中国药品生物制品检定所;甲醇、乙腈及三氟乙酸为色谱纯,水为注射用水(自制),其余试剂均为分析纯,市售。

1.2 方法

1.2.1 样品采集方法。于2008~2010年7月25日至8月20日,即红花采收期内分5个不同时段(A)8:00~10:00,(B)11:00~13:00,(C)14:00~16:00,(D)17:00~19:00,(E)20:00~22:00,每个时间段间隔10 min随机采集红花药材,将每个时段的混匀并编号,备用。

1.2.2 羟基红花黄色素A含量测定^[1]。

1.2.2.1 供试品溶液制备。取备用的红花样品,研成粉末(过三号筛),精密称定0.400 g,置具塞锥形瓶中,精密加入50 ml浓度25%的甲醇,称定重量,超声处理(功率300 W,频率50 kHz)40 min,放冷,再称定重量,用浓度25%的甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,经0.45 μm微孔滤膜,即得供试品溶液。

1.2.2.2 对照品溶液。精密称取羟基红花黄色素A对照品适量,置10 ml量瓶中,用浓度25%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得浓度为0.13 mg/ml的对照品溶液。

1.2.2.3 色谱条件。采用高效液相色谱法(HPLC)进行测定。色谱条件为:C₁₈色谱柱(4.6 mm×25 cm,5 μm);流动相为无水甲醇-乙腈-浓度0.7%磷酸溶液(26:2:72,V/V/V);流速为1.0 ml/min;柱温25℃;检测波长为403 nm;理论板数按羟基红花黄色素A峰计算应不低于3 000。

1.2.3 山奈素含量测定^[1]。

1.2.3.1 供试品溶液制备。取备用的红花各样品,研成粉末(过三号筛),精密称定0.500 g,精密加入25 ml无水甲醇,称定重量,加热回流30 min,放冷,再称定重量,用无水甲醇

基金项目 国家科技部“重大新药创制”科技重大专项(编号:2011-ZX09201-201-06)。

作者简介 周铁梅(1971-),女,山西榆次人,实验师,从事中药材规范化种植研究、质量管理及标准研究工作。*通讯作者,研究员,工程师,从事新药研发、质量管理及标准研究工作, E-mail: zhangyan3886@sina.com。

收稿日期 2013-03-07

补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 15 ml,置平底烧瓶中,加盐酸溶液(15—37)5 ml,摇匀,置水浴中加热水解 30 min,立即冷却,转移至 25 ml 量瓶中,用无水甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

1.2.3.2 对照品溶液制备。精密称取山奈素对照品适量,置 100 ml 量瓶中,用无水甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得浓度为 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液。

1.2.3.3 色谱条件。采用高效液相色谱法(HPLC)进行测定。色谱条件为: C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 25 cm, 5 μm);流动相为无水甲醇—浓度 0.4% 磷酸溶液(52:48, V/V);检测波长为 367 nm;理论板数按山奈素峰计算应不低于 3 000。

1.2.4 含量测定。取不同时段采收的红花,分别照方法制备供试品溶液,取供试品溶液及对照品溶液,照上述色谱条件进样测定,用外标法计算含量。

1.2.5 指纹图谱相似度考察。

1.2.5.1 供试品溶液制备。精密称取红花药材 1.000 g,至 100 ml 锥形瓶中,加入 30 ml 纯化水,精密称重,浸泡过夜,于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴热回流提取 1 h,冷却至室温,补重。取上清液中,经 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

1.2.5.2 参照物溶液制备。精密称取羟基红花黄色素 A 对照品适量,置 10 ml 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,制得浓度为 0.1 mg/ml 参照物溶液。

1.2.5.3 色谱条件。红花指纹图谱的建立主要是通过高效液相色谱法来实现。色谱条件: Hhenomenex Gemini - C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)—浓度 0.05% 冰三氟乙酸水溶液(B),梯度洗脱:0~20 min, (A)0 \rightarrow 2% (B)100% \rightarrow 98%;20~60 min, (A)2% \rightarrow 20% (B)98% \rightarrow 80%;60~70 min, (A)20% (B)80%;紫外检测波长为 223 nm;柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.5.4 相似度评价。分别取不同采收时段采集的红花照“1.2.5.1”项下方法制成供试品溶液,分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 10 μl ,注入液相色谱仪进行测定,记录色谱图。

2 结果与分析

2.1 羟基红花黄色素 A 和山奈素的含量测定 由表 1 可知,羟基红花黄色素 A 的含量在 2.4%~2.6%;山奈素的含量在 0.083%~0.085%。不同时段采集的红花药材中羟基红花黄色素 A 和山奈素含量没有明显差异,这可能与采样时间的设定和样品量有关。

2.2 相似度评价 参照物羟基红花黄色素 A 的 HPLC 图谱见图 1。图 2 表明,14 号峰为红花的主要指标性成分羟基红花黄色素 A,将其作为参比峰,得到 19 个共有峰。将各供试品及对照品色谱图以 AIA 格式输出,导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2008 版),以中国药品生物制品检定所提供的标准红花指纹图谱为对照,进行相似度评价,具体数据见表 2。图 2 和表 2 表明,15 份样品的指纹图谱与对照图谱相比较,主要峰群的整体图貌基本一致,特征指纹峰的

相对保留时间一致;与对照指纹图谱经过相似度评价,相似度均达到 0.95 以上,说明不同时段采集的红花样品质量之间无较大差别。

表 1 新疆裕民 GAP 基地不同采收时段红花中羟基红花黄色素 A、山奈素测定结果($n=2$)

样品号	采收日期	采收时段	羟基红花黄色素 A//%	山奈素//%
1	2008.07.30-2008.08.20	A(8:00~10:00)	2.6	0.084
2	2008.07.30-2008.08.20	B(11:00~13:00)	2.6	0.083
3	2008.07.30-2008.08.20	C(14:00~16:00)	2.5	0.085
4	2008.07.30-2008.08.20	D(17:00~19:00)	2.4	0.084
5	2008.07.30-2008.08.20	E(20:00~22:00)	2.4	0.083
6	2009.07.30-2009.08.20	A(8:00~10:00)	2.5	0.085
7	2009.07.30-2009.08.20	B(11:00~13:00)	2.6	0.085
8	2009.07.30-2009.08.20	C(14:00~16:00)	2.5	0.084
9	2009.07.30-2009.08.20	D(17:00~19:00)	2.4	0.083
10	2009.07.30-2009.08.20	E(20:00~22:00)	2.4	0.084
11	2010.07.30-2010.08.20	A(8:00~10:00)	2.6	0.084
12	2010.07.30-2010.08.20	B(11:00~13:00)	2.6	0.083
13	2010.07.30-2010.08.20	C(14:00~16:00)	2.5	0.085
14	2010.07.30-2010.08.20	D(17:00~19:00)	2.4	0.084
15	2010.07.30-2010.08.20	E(20:00~22:00)	2.4	0.083

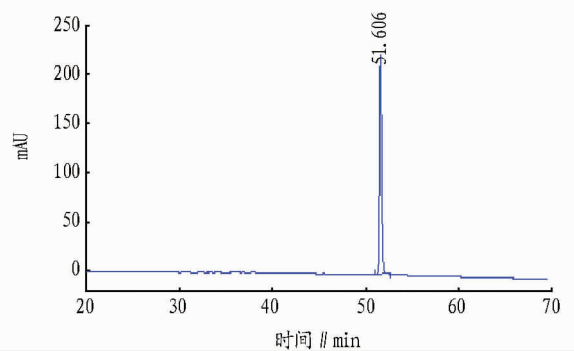
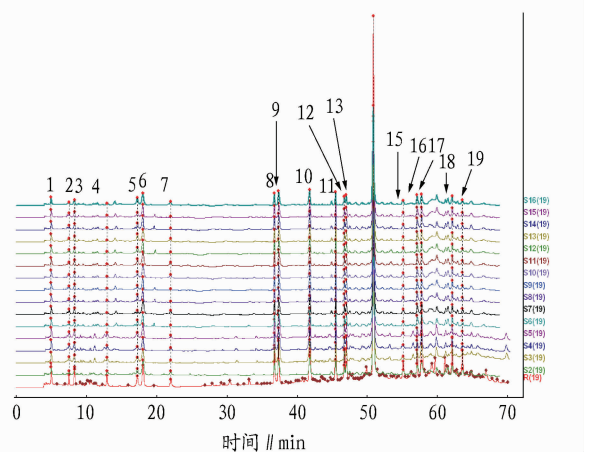


图 1 参照物羟基红花黄色素 A 的 HPLC 图谱



注:R 为对照峰,S2-S6 分别为 2008 年 A、B、C、D、E 5 个时段的样品,S7-S11 分别为 2009 年 A、B、C、D、E 5 个时段的样品,S12-S16 分别为 2010 年度 A、B、C、D、E 5 个时段的样品。

图 2 不同采收时间红花指纹图谱比较

3 讨论

(1) 研究采用 HPLC 的方法对 2008~2010 年份中不同时段采集的 15 批次的样品进行含量测定。试验结果表明,

(下转第 4333 页)

- [4] ZHANG L, ZHANG J H, YANG S M, et al. Chemical constituents from the leaves *Aglaia perviridies* [J]. *Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(3): 213–215.
- [5] KIM S, SALIM A A, SWANSON S M, et al. Potential of cyclopenta [b] benzofurans from *Aglaia* species in cancer chemotherapy [J]. *Anti - Cancer Agents Med Chem*, 2006, 6(4): 319–345.
- [6] PROKSCH P E, DRADA R A, EBEL R, et al. Chemistry and biological activity of rocaglamide derivatives and related compounds in *Aglaia* species (Meliaceae) [J]. *Curr Org Chem*, 2001, 5(9): 923–938.
- [7] ZHU J Y, LAVRIK I N, MAHLKNECHT U, et al. The traditional chinese herbal compound rocaglamide preferentially induces apoptosis in leukemia cells by modulation of mitogen - activated protein kinase activities [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(8): 1839–1846.
- [8] ANGELA A S, ALISON D P, HEE-BYUNG C, et al. Ponapensin, a cyclopenta [bc] benzopyran with potent NF - κ B inhibitory activity from *Aglaia ponapensis* [J]. *Bioorgan Med Chem Lett*, 2007, 17(1): 109–112.
- [9] PROKSCH P, GLAISI M, TREIBER M K, et al. Rocaglamide derivatives are immunosuppressive phytochemicals that target NF - AT activity in T Cells [J]. *J Immunol*, 2005, 174(11): 7075–7084.
- [10] KOUL O, SINGH G, SINGH R, et al. Bioefficacy and mode - of - action of aglaroxin A from *Aglaia elaeagnoides* (syn. *A. roxburghiana*) against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura* [J]. *Ent Exper Appl*, 2005, 114(3): 197–204.
- [11] 张玲, 张建辉, 杨淑敏, 等. 碧绿米仔兰叶的化学成分 [J]. *上海大学学报: 自然科学版*, 2010, 16(5): 378–381.
- [12] 杨四海, 曾水云, 郑烈生. 米仔兰枝条中杀虫活性成分研究 [J]. *中草药*, 2004, 35(11): 1207–1211.
- [13] 蔡小华, 谢兵, 冯育军. 米仔兰中环戊烷并苯咪唑化学成分分析 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(23): 11571–11572, 11590.
- [14] JANPRASERT J, SATASOOK C, SUKUMALANAND P, et al. Rocaglamide, a natural benzofuran insecticide from *Aglaia odorata* [J]. *Phytochem*, 1993, 32(1): 67–69.
- [15] NUGROHO B W, EDRADA R A, GÜSSREGEN B, et al. Insecticidal rocaglamide derivatives from *Aglaia duppreana* [J]. *Phytochem*, 1997, 44(8): 1455–1461.
- [16] NUGROHO B W, EDRADA R, WRAY A, et al. An insecticidal rocaglamide derivatives and related compounds from *Aglaia odorata* (Meliaceae) [J]. *Phytochem*, 1999, 51(3): 367–376.
- [17] BRINGMANN G, MÜHLBACHER J, MESSER K, et al. Cyclorocaglamide, the first bridged cyclopentatetrahydrobenzofuran, and a related “open chain” rocaglamide derivative from *Aglaia oligophylla* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(1): 80–85.
- [18] 李杰, 刘玉琴. MTT 法肿瘤研究中的改良和应用进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 1998, 25(4): 312.

(上接第 4317 页)

15 份样品中, 羟基红花黄色素 A 的含量为 2.4% ~ 2.6%, 变化范围为 0.2%; 山奈素含量为 0.083% ~ 0.085%, 变化范围为 0.002%。中国药典 2010 版 I 部规定红花中羟基红花黄色素 A 和山奈素含量限度分别为不低于 1.0% 和 0.050%。在所测的 15 份样品中, 羟基红花黄色素 A 和山奈素含量均符合中国药典 2010 版 I 部规定。

表 2 不同采收时段红花指纹图谱相似度分析结果

样品	相似度	样品	相似度	样品	相似度
S2	0.960	S7	0.954	S12	0.953
S3	0.955	S8	0.953	S13	0.953
S4	0.964	S9	0.952	S14	0.955
S5	0.963	S10	0.953	S15	0.952
S6	0.955	S11	0.953	S16	0.953

(2) 研究采用 HPLC 的方法, 同时以中国药品生物制品检定所提供的标准红花指纹图谱为对照, 对不同时段采集的红花进行了色谱分析。试验结果表明, 15 份样品的指纹图谱与对照图谱相比较, 主要峰群的整体图貌基本一致, 特征指纹峰的相对保留时间一致; 与对照指纹图谱经过相似度评价, 相似度均达到 0.95 以上, 说明不同时段采集的红花样品质量之间无较大差别。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科

- 技出版社, 2010: 141.
- [2] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明, 等. 不同栽培种群红花的孢粉特征、同工酶谱及化学成分含量 [J]. *中国药学杂志*, 1999, 34(11): 728–730.
- [3] 王若菁, 杨滨. 红花的化学成分及质量标准研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2007, 13(5): 65–69.
- [4] 郭美丽, 张汉明, 张芝玉. 红花本草考证 [J]. *中药材*, 1996, 19(4): 202–203.
- [5] 张丽范, 于美霞. 红花注射液治疗冠心病心肌缺血的临床观察 [J]. *心血管康复医学杂志*, 2002, 11(4): 455–456.
- [6] 夏玉叶, 闵暘. 羟基红花黄色素 A 对脑循环障碍影响的实验研究 [J]. *中国药理通讯*, 2004, 21(3): 6.
- [7] 胡书群, 张光毅, 赵文君. 红花对脑缺血 $Ca^{2+}/Cam^2PK II$ 活性抑制作用的影响 [J]. *徐州医学院学报*, 1995, 15(3): 225–228.
- [8] 赵钢, 王安虎. 红花的资源及药用价值 [J]. *中国野生植物资源*, 2004, 23(3): 24.
- [9] 郭美丽, 张汉明, 张芝玉, 等. 不同栽培种群红花的活血化瘀作用比较 [J]. *第二军医大学学报*, 1999, 20(1): 27–29.
- [10] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明, 等. 不同栽培种群红花各器官的组织构造和化学成分含量 [J]. *第二军医大学学报*, 1999, 20(7): 441–444.
- [11] 张戈, 郭美丽, 张汉明, 等. 不同种质红花药材的高效液相色谱法指纹图谱研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2006, 27(3): 280–283.
- [12] 王若菁, 杨滨, 付梅红. 红花药材的质量评价 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(22): 2642–2646.
- [13] 赵小磊, 龚立雄, 王林, 等. 河南产区红花药材最佳采收期的研究 [J]. *中医学报*, 2010, 149(25): 704–705.
- [14] 王林, 龚立雄, 刘超, 等. 一日内不同时段采收对红花质量的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2006, 13(2): 38–39.
- [15] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明, 等. 采收期和加工方法对红花质量的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 1999, 20(8): 535–537.
- [16] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明. 红花干物质和化学成分含量动态变化规律研究 [J]. *中草药*, 1999, 30(2): 104–106.
- [17] 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.