

- [J]. 浙江工业大学学报, 2014, 42(5): 496-498, 548.
- [15] 张 师. 竹叶黄酮对  $\text{CCl}_4$  所致小鼠肝损伤的保护作用及抗氧化机制研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.
- [16] 栾芳菲. 竹叶提取物和杜仲提取物体外抗癌活性研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2016.
- [17] 潘 月, 雷美玲, 吕兆林, 等. 竹叶多糖分离纯化及抗氧化能力的研究[J]. 北京林业大学学报, 2015, 37(3): 148-152.
- [18] Liu J, Zhu M, Feng C, *et al.* Bamboo leaf extract improves spatial learning ability in a rat model with senile dementia[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2015, 16(7): 593-601.
- [19] Oh J, Jo H, Cho A R, *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas[J]. *Food Control*, 2013, 31(2): 403-409.
- [20] 杨 萍, 刘洪波, 潘佳佳, 等. 不同季节毛竹竹叶挥发油成分与抑菌效果比较研究[J]. 核农学报, 2015, 29(2): 313-320.
- [21] 邵 莹, 吴启南, 周 婧, 等. 淡竹叶黄酮对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(2): 241-247.
- [22] 王正云, 唐劲松, 祁兴普. 竹叶抗氧化物结合气调包装对鱼丸品质的影响[J]. 食品工业科技, 2013, 34(23): 319-322.
- [23] 张晓丽, 马海霞, 杨贤庆. 竹叶抗氧化物结合不同包装方式对鲜罗非鱼片保鲜效果的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(11): 256-261.
- [24] 王 楠. 具有美白和抑菌双重功效的竹叶黄酮纳米粒子[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [25] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 328.
- [26] 蔡慧卿, 詹志来, 郑丽香, 等. 中药淡竹叶质量标准研究概况[J]. 中医学报, 2017, 32(12): 2430-2434.
- [27] 皮子凤, 侯广月, 艾 军, 等. 化学计量学方法研究北五味子中木脂素含有量与抗氧化活性的相关性[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1133-1139.
- [28] 胡金伟, 尹文强, 赵延奎, 等. 慢性病患者优先使用基本药物的影响因素分析[J]. 中国全科医学, 2015, 18(19): 2269-2273.
- [29] 曾维才, 石 碧. 天然产物抗氧化活性的常见评价方法[J]. 化工进展, 2013, 32(6): 1205-1213, 1247.
- [30] 张新国, 刘英娟, 曹心张, 等. 22种常见抗肿瘤中草药的抗氧化活性研究[J]. 中医药学报, 2015, 43(5): 31-35.
- [31] 王雪梅, 吴汉平, 汪晓敏, 等. 16种中草药提取物的抗氧化活性研究[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 2015, 39(2): 74-80.
- [32] 吕邵娃, 董书羽, 郭玉岩, 等. 数据分析技术在中药谱效关系中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(15): 226-230.

## HPLC 法同时测定不同品种红花中 4 种黄酮类

马梦雪, 吴士筠, 李 刚, 覃 瑞, 董 翔, 刘 虹\*

(中南民族大学生命科学院, 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北重点实验室, 湖北武汉 430074)

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法同时测定不同红花 *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) 中羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素、槲皮素的含量。方法 红花 60% 甲醇提取物的分析采用 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.5% 乙酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 25 °C; 检测波长 300 nm。结果 羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素、槲皮素分别在 17.36~282 ( $R^2=0.9997$ )、1.68~181.84 ( $R^2=0.9995$ )、0.52~8.71 ( $R^2=0.9995$ )、5.17~94.68 ( $R^2=0.9994$ ) μg/mL 的范围内线性关系良好, 平均加样回收率 96.83%~98.39%, RSD 1.13%~2.36%。结论 该方法准确稳定, 重复性好, 可用于红花的质量控制。

**关键词:** 红花; 羟基红花黄色素 A; 芦丁; 木犀草素; 槲皮素; HPLC

**中图分类号:** R284.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2019)11-2694-07

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.11.027

收稿日期: 2018-11-12

基金项目: 国家科学技术部科技基础性工作专项重点项目资助 (2014FY110100); 湖北省科技条件平台建设专项 (2017BEC014); 湖北重点实验室建设基金 (2018BFC360)

作者简介: 马梦雪 (1993—), 女, 硕士生, 从事植物细胞遗传研究。E-mail: mmengxue93@163.com

\* 通信作者: 刘 虹 (1977—), 女, 副教授, 从事植物分类学研究。E-mail: 15102751466@163.com

# Simultaneous determination of four flavonoids in *Carthamus tinctorius* of different varieties by HPLC

MA Meng-xue, WU Shi-jun, LI Gang, QIN Rui, DONG Xiang, LIU Hong\*

(Hubei Provincial Key Laboratory for Protection and Application of Special Plant Germplasm in Wuling Area of China, College of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

**ABSTRACT: AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of hydroxysafflor yellow A, rutin, luteolin and quercetin in *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) of different varieties.

**METHODS** The analysis of 60% methanol extract of *C. tinctorius* was performed on a 25 °C thermostatic Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm×150 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.5% acetic acid flowing at 0.4 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 300 nm.

**RESULTS** Hydroxysafflor yellow A, rutin, luteolin and quercetin showed good linear relationships within the ranges of 17.36-282 ( $R^2=0.9997$ )、1.68-181.84 ( $R^2=0.9995$ )、0.52-8.71 ( $R^2=0.9995$ )、5.17-94.68 ( $R^2=0.9994$ ) μg/mL, whose average recoveries were 96.83%-98.39% with the RSDs of 1.13%-2.36%, respectively. **CONCLUSION** This accurate, stable and reproducible method can be used for the quality control of *C. tinctorius*.

**KEY WORDS:** *Carthamus tinctorius* L.; hydroxysafflor yellow A; rutin; luteolin; quercetin; HPLC

红花 *Carthamus tinctorius* L. 属菊科红花属的一年生或两年生草本植物, 又名刺红花、菊红花和红花菜等, 是一种药食同源的重要经济作物<sup>[1]</sup>。红花适应性较强, 能抗寒、耐旱、耐盐碱<sup>[2]</sup>, 在世界各地均有分布, 哈萨克斯坦和印度是其主产国<sup>[3]</sup>。在我国, 红花的种植地区几乎遍布全国 25 个省市(自治区), 河南、四川、浙江、云南和新疆为主产区<sup>[4]</sup>。红花的花瓣作为传统的中草药始载于《开宝本草》, 《本草纲目》记载其具有活血通经、去瘀止痛的功效<sup>[5]</sup>。现代药理研究表明, 红花及其活性成分具有广泛的生物活性, 包括扩张冠状动脉、改善心肌缺血、调节免疫系统、抗凝和抗血栓形成、抗氧化、抗衰老、抗菌、抗炎、抗肿瘤、降血脂、镇痛等<sup>[6-10]</sup>。黄酮类是其最主要的化学成分, 根据结构的不同, 可以将其分为黄酮、黄酮醇、黄烷酮、异黄酮、查尔酮、花色素等。羟基红花黄色素 A 是红花中主要的查尔酮类, 也是其活血化瘀功效的主要有效成分; 槲皮素及其苷类芦丁为黄酮醇类, 是其抗炎、抗病毒、抗肿瘤等药理作用的主要活性成分<sup>[11]</sup>; 木犀草素是具有代表性的天然黄酮, 具有消炎、抗过敏、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种药理活性<sup>[12]</sup>, 但红花中木犀草素研究相对较少, 花中木犀草素的含量测定尚未见报道。

中药质量是对中药有效性和安全性的反映和表

征, 刘昌孝等<sup>[13]</sup>于 2016 年提出中药质量标志物这一新概念, 它是指存在于中药材和中药产品中固有的或加工制备过程中形成的、与中药的功能属性密切相关的化学物质。2010 年版《中国药典》中仅以羟基红花黄色素 A 和山柰素为指标用于红花药材的质量控制, 不能反映其多成分多靶点的特点, 难以全面反映药材质量<sup>[14]</sup>。故本研究以黄酮类为主要研究对象, 以羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素和槲皮素为质量标志物, 采用 HPLC 法同时测定不同品种红花中 4 种黄酮类的含量, 以期对红花优良品种的选育及红花药材内在质量的控制提供科学依据。

## 1 仪器与材料

1.1 仪器 Agilent 1260LC 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm, 美国安捷伦公司); KQ-100E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AL-204 分析天平(美国梅特勒-托利多公司); 电热恒温鼓风干燥箱(黄石市恒丰医疗器械有限公司); JK-WB400 水浴锅(上海精密科学仪器有限公司); 溶剂过滤器、0.45 μm 微孔过滤膜、一次性针头过滤器等(天津市津腾实验设备有限公司)。

1.2 材料 以 62 份不同品种红花为材料, 种子由中国农业科学院油料作物研究所提供, 信息见表 1。取材于中南民族大学红花种植基地, 并于实验

室内用镊子取下花瓣, 50 ℃ 烘箱内烘干至恒定质量, 粉碎, 过 50 目筛, 备用。羟基红花黄色素 A (批号 R25A9F59977)、槲皮素 (批号 C09S8Y43412)、芦丁 (批号 Y16M9S61523)、木

犀草素 (批号 C24M8Q36543) 对照品均购于上海源叶生物科技有限公司; 甲醇、乙腈均为色谱纯购于西格玛奥德里奇上海贸易有限公司; 其他生化试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

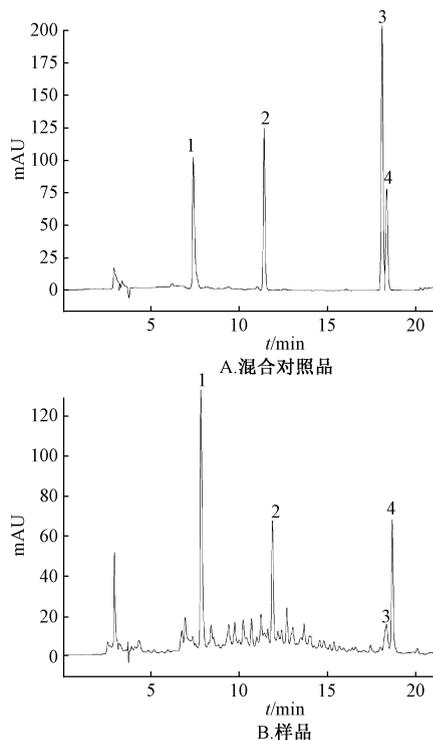
编号	品种	来源	编号	品种	来源	编号	品种	来源
1	AH-1	安徽	22	YN-5	云南自选	43	CZE-1	捷克
2	AH-2	安徽	23	YN-6	云南自选	44	ISR-1	以色列
3	XJ-1	新疆	24	YN-7	云南自选	45	SYR-1	叙利亚
4	NX-1	宁夏	25	YN-8	云南自选	46	EGY-1	埃及
5	LN-1	辽宁	26	YN-9	云南自选	47	EGY-2	埃及
6	LN-2	辽宁	27	YN-10	云南自选	48	MAR-1	摩洛哥
7	SC-1	四川	28	YN-11	云南自选	49	MAR-2	摩洛哥
8	SC-2	四川	29	YN-12	云南自选	50	PRT-1	葡萄牙
9	SD-1	山东	30	YN-13	云南自选	51	BGD-1	孟加拉国
10	SD-2	山东	31	YN-14	云南自选	52	BGD-2	孟加拉国
11	SD-3	山东	32	YN-15	云南自选	53	AFG-1	阿富汗
12	HN-1	河南	33	YN-16	云南自选	54	JOR-1	约旦
13	HN-2	河南	34	YN-17	云南自选	55	JOR-2	约旦
14	HB-1	河北	35	IND-1	印度	56	ESP-1	西班牙
15	HB-2	河北	36	IND-2	印度	57	DEU-1	德国
16	JS-1	江苏	37	IND-3	印度	58	ARG-1	阿根廷
17	JS-2	江苏	38	IND-4	印度	59	USA-1	美国
18	YN-1	云南	39	TUR-1	土耳其	60	USA-2	美国
19	YN-2	云南自选	40	PAK-1	巴基斯坦	61	RUS-1	俄罗斯
20	YN-3	云南自选	41	BEL-1	比利时	62	KEN-1	肯尼亚
21	YN-4	云南自选	42	FRA-1	法国			

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) - 0.5% 乙酸溶液 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 15 min, 10% ~ 40% A; 15 ~ 20 min, 40% ~ 70% A; 20 ~ 30 min, 70% ~ 10% A); 检测波长 300 nm; 柱温 25 ℃; 体积流量 0.5 mL/min; 进样量 10 μL。色谱图见图 1。

2.2 混合对照品溶液制备 分别精密称取羟基红花黄色素 A、芦丁、槲皮素、木犀草素对照品 2.5 mg, 甲醇溶解并定容至 25 mL 棕色量瓶中, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即为 0.1 mg/mL 对照品贮备液。准确吸取各对照品贮备液适量于 10 mL 棕色量瓶中, 用甲醇稀释并定容, 摇匀, 过滤, 取续滤液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.3 供试品溶液制备 称取烘干的红花样品粉末 (过 50 目筛) 0.3 g 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 12 mL 60% 甲醇溶液, 称定质量, 于 80 ℃ 加热回流 40 min, 放冷, 用 60% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 过滤, 备用。精密移取 2 mL 滤液于 10 mL 棕色量瓶中, 用 60% 甲醇稀释至刻度, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。



1. 羟基红花黄色素 A 2. 芦丁 3. 木犀草素 4. 槲皮素  
1. hydroxysafflor yellow A 2. rutin 3. luteolin 4. quercetin

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液适量，依次逐级稀释，定容，摇匀，制得6个质量浓度梯度的对照品混合溶液。在“2.1”项色谱条件下进样，以对照品质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)进行回归，结果见表2，表明各成分在各自范围内线性关系良好。

表2 各成分线性关系

Tab.2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
羟基红花黄色素 A	$Y=5\ 792.3X+5.213\ 9$	0.999 7	17.36~282.00
芦丁	$Y=16\ 718X-10.166\ 0$	0.999 5	1.68~181.84
木犀草素	$Y=55\ 250X-30.017\ 0$	0.999 5	0.52~8.71
槲皮素	$Y=22\ 291X-0.776\ 1$	0.999 4	5.17~94.68

2.5 精密度试验 取“2.2”项下混合对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下连续进样6次，测得羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素、槲皮素峰面积 RSD 分别为 0.530%、0.608%、0.926%、0.930%，表明仪器精密度良好。

表3 各成分加样回收率试验结果 (n=6)

Tab.3 Results of recovery tests for various constituents (n=6)

成分	原有量/mg	加入量/mg	测得量/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
羟基红花黄色素 A	28.199	0.500	28.677	95.60	96.83	1.13
	28.207	0.500	28.701	98.80		
	28.176	0.500	28.662	97.16		
	28.148	0.500	28.631	96.60		
	28.189	0.500	28.675	97.20		
	28.201	0.500	28.679	95.60		
芦丁	5.193	0.800	6.001	101.04	98.39	2.11
	5.269	0.800	6.051	97.75		
	5.258	0.800	6.032	96.74		
	5.201	0.800	6.010	101.13		
	5.224	0.800	6.009	98.13		
	5.237	0.800	6.001	95.54		
木犀草素	0.414	0.700	1.079	95.00	98.10	2.36
	0.402	0.700	1.091	98.43		
	0.427	0.700	1.126	99.88		
	0.431	0.700	1.099	95.43		
	0.414	0.700	1.125	101.57		
	0.418	0.700	1.106	98.29		
槲皮素	3.557	0.600	4.134	96.22	97.53	2.15
	3.614	0.600	4.199	97.50		
	3.635	0.600	4.231	99.33		
	3.527	0.600	4.134	101.12		
	3.577	0.600	4.148	95.17		
	3.701	0.600	4.276	95.83		

2.9 样品含有量测定 取62份红花供试品溶液，按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液各3份，在“2.1”项色谱条件下进样，计算4种黄酮类的

2.6 稳定性试验 精密称取安徽红花粉末(AH-1)，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下，分别于0、6、12、18、24 h进样，测得羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素、槲皮素峰面积 RSD 分别为 1.108%、0.486%、1.041%、0.721%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 精密称取安徽红花粉末(AH-1)，按“2.3”项下方法制备供试品溶液6份，在“2.1”项色谱条件下进样，测得羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素、槲皮素峰面积 RSD 分别为 0.803%、1.835%、1.562%、0.678%，表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 称取6份已知含有量的红花粉末，分别精密加入一定质量的羟基红花黄色素 A、芦丁、木犀草素和槲皮素对照品，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样，计算回收率，结果见表3。

含有量，结果见表4。同时，运用SPSS 21.0软件对4种成分含有量四项指标的数据进行标准化处理，结果见表5。

表4 各成分含有量测定结果 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Tab. 4 Results of content determination of various constituents ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

编号	样品	羟基红花黄色素 A/%	芦丁/%	木犀草素/%	槲皮素/%
1	AH-1	2.816±0.001	0.418±0.007	0.065±0.001	0.357±0.004
2	AH-2	1.174±0.001	0.268±0.001	0.033±0.001	0.324±0.003
3	XJ-1	1.428±0.001	0.508±0.004	0.100±0.002	0.949±0.004
4	NX-1	2.386±0.012	2.491±0.002	0.041±0.001	0.625±0.001
5	LN-1	1.094±0.007	0.237±0.001	0.031±0.010	0.308±0.002
6	LN-2	1.623±0.001	0.444±0.001	0.064±0.001	0.546±0.003
7	SC-1	2.158±0.001	0.250±0.003	0.046±0.002	0.490±0.001
8	SC-2	1.834±0.007	0.558±0.007	0.142±0.001	1.357±0.005
9	SD-1	1.856±0.001	0.345±0.004	0.048±0.003	0.459±0.001
10	SD-2	3.369±0.001	0.586±0.001	0.065±0.001	0.531±0.004
11	SD-3	2.712±0.015	0.704±0.002	0.118±0.003	0.934±0.001
12	HN-1	2.497±0.020	0.291±0.001	0.077±0.002	0.941±0.001
13	HN-2	2.134±0.003	0.420±0.003	0.049±0.000	0.309±0.001
14	HB-1	2.167±0.007	0.276±0.006	0.091±0.001	0.827±0.004
15	HB-2	1.705±0.008	0.404±0.001	0.063±0.001	0.563±0.005
16	JS-1	2.261±0.018	0.736±0.001	0.034±0.005	1.311±0.002
17	JS-2	1.965±0.018	0.242±0.007	0.057±0.002	0.387±0.001
18	YN-1	1.011±0.011	0.047±0.001	0.063±0.001	0.322±0.003
19	YN-2	1.246±0.008	0.373±0.001	0.060±0.000	0.596±0.004
20	YN-3	1.002±0.014	0.143±0.002	0.036±0.001	0.421±0.001
21	YN-4	1.600±0.008	0.360±0.003	0.076±0.001	0.811±0.004
22	YN-5	2.240±0.003	0.613±0.001	0.056±0.001	0.883±0.001
23	YN-6	1.532±0.003	0.337±0.001	0.059±0.003	0.840±0.001
24	YN-7	3.015±0.019	0.576±0.004	0.072±0.001	0.699±0.001
25	YN-8	2.620±0.004	0.396±0.002	0.064±0.001	0.876±0.001
26	YN-9	1.946±0.002	0.432±0.001	0.115±0.001	0.517±0.002
27	YN-10	1.588±0.002	0.394±0.001	0.093±0.007	0.600±0.001
28	YN-11	1.871±0.001	0.505±0.002	0.065±0.001	0.928±0.002
29	YN-12	1.373±0.001	0.280±0.003	0.049±0.001	0.479±0.002
30	YN-13	1.686±0.003	0.402±0.001	0.079±0.001	0.825±0.002
31	YN-14	0.937±0.001	0.052±0.001	0.016±0.002	0.022±0.001
32	YN-15	1.198±0.004	0.241±0.000	0.038±0.000	0.749±0.001
33	YN-16	1.674±0.007	0.318±0.001	0.088±0.002	0.974±0.001
34	YN-17	1.508±0.007	0.199±0.003	0.082±0.004	0.657±0.001
35	IND-1	3.847±0.006	0.470±0.001	0.114±0.001	0.723±0.003
36	IND-2	0.959±0.005	0.118±0.007	0.030±0.001	0.239±0.001
37	IND-3	1.130±0.003	0.308±0.001	0.043±0.001	1.229±0.002
38	IND-4	1.134±0.002	0.336±0.002	0.027±0.001	0.631±0.001
39	TUR-1	1.354±0.002	0.157±0.000	0.027±0.001	0.573±0.001
40	PAK-1	2.231±0.019	0.297±0.006	0.096±0.001	0.592±0.001
41	BEL-1	1.431±0.003	0.334±0.001	0.130±0.002	0.693±0.005
42	FRA-1	0.965±0.004	0.253±0.006	0.074±0.001	0.613±0.004
43	CZE-1	1.334±0.004	0.404±0.001	0.079±0.001	0.702±0.001
44	ISR-1	1.914±0.001	0.259±0.001	0.075±0.003	0.846±0.002
45	SYR-1	2.869±0.001	0.370±0.001	0.100±0.002	0.689±0.001
46	EGY-1	2.662±0.002	1.236±0.001	0.076±0.001	0.932±0.001
47	EGY-2	1.429±0.001	0.393±0.002	0.032±0.001	0.546±0.001
48	MAR-1	1.307±0.012	0.301±0.001	0.048±0.009	0.548±0.001
49	MAR-2	1.837±0.010	0.330±0.001	0.056±0.001	1.829±0.002
50	PRT-1	2.498±0.005	0.241±0.005	0.053±0.006	1.150±0.002
51	BGD-1	1.757±0.021	0.227±0.003	0.041±0.001	0.654±0.005
52	BGD-2	2.374±0.008	0.259±0.008	0.065±0.004	0.683±0.003
53	AFG-1	1.373±0.009	0.136±0.002	0.088±0.001	1.048±0.007
54	JOR-1	1.725±0.022	0.148±0.001	0.058±0.002	0.955±0.002
55	JOR-2	2.273±0.040	0.575±0.003	0.100±0.002	0.946±0.005
56	ESP-1	2.088±0.001	0.434±0.001	0.140±0.001	1.045±0.002
57	DEU-1	3.202±0.002	0.369±0.004	0.089±0.008	0.759±0.001
58	ARG-1	2.035±0.004	0.222±0.007	0.069±0.005	0.815±0.006
59	USA-1	1.920±0.001	0.551±0.002	0.072±0.001	0.795±0.001
60	USA-2	2.183±0.008	0.296±0.004	0.066±0.003	0.868±0.003
61	RUS-1	2.636±0.014	0.490±0.006	0.070±0.008	0.870±0.001
62	KEN-1	1.290±0.016	0.365±0.002	0.127±0.001	0.382±0.003

表5 黄酮类成分含有量指标统计量分析 (%)  
Tab. 5 Index statistics analysis of flavonoids content (%)

编号	指标类型	最大值	最小值	极差	平均值	变异系数
1	羟基红花黄色素 A 含有量	3.847	0.937	2.91	1.817	34.756
2	芦丁含有量	0.736	0.047	0.689	0.350	41.993
3	木犀草素含有量	0.142	0.016	0.126	0.069	42.008
4	槲皮素含有量	1.932	0.022	1.910	0.788	49.611

### 3 讨论

3.1 流动相选择 黄酮类化合物易溶于甲醇、乙腈等有机溶剂。为了同时检测红花中4种黄酮类,同时保证有较好的分离效果,考察了甲醇-水、甲醇-0.4%磷酸、甲醇-乙腈-0.7%磷酸、甲醇-0.5%乙酸及乙腈-0.5%乙酸等流动相<sup>[15-18]</sup>。结果表明,使用前几种流动相系统时,4种组分与其他成分分离度不高,分离所需时间也较长。在选择乙腈-0.5%乙酸为流动相梯度洗脱时,4种黄酮类分离效果较好。

3.2 检测波长选择 通过对对照品溶液波长的扫描,得到各对照品分别在402、370、350、320 nm处有最大吸收,因此考察这4种波长的检测灵敏度。结果发现300、350 nm条件下检测灵敏度较高,300 nm作检测波长较350 nm的干扰峰小,效果最好。因而选择300 nm为最佳检测波长。

3.3 供试品制备方法考察 采用加热回流法,以总黄酮的提取率为考察指标,对提取溶剂(20%、40%、60%甲醇)、料液比(1:40、1:50、1:60)、提取温度(60、70、80℃)和提取时间(60、80、100 min)进行正交试验考察。结果表明,1.0 g红花粉末中加入40 mL 60%甲醇回流提取80 min时总黄酮的提取率较高。

3.4 指标成分分析 本研究以4种成分对红花品质进行多指标分析,由含有量测定结果可知各品种红花的羟基红花黄色素 A 含有量平均值为0.937%~3.847%,其中仅有YN-14和IND-2的值低于1%,其余60份红花的羟基红花黄色素 A 含有量均符合2010年版《中国药典》不少于1%的要求。由统计量分析结果可知,羟基红花黄色素 A 含有量平均值为1.817%,最高含有量(3.847%)是最低含有量(0.937%)的4.10倍;芦丁含有量平均值为0.350%,最高含有量(0.736%)是最低含有量(0.047%)的15.66倍;木犀草素含有量平均值为0.069%,最高含有量(0.142%)是最低含有量(0.016%)的8.875倍;槲皮素含有量平均值为0.788%,最高含有量(1.932%)是最

低含有量(0.022%)的87.81倍;4种黄酮类含有量的平均变异系数为42.092%,表明红花植物种内不同品种之间黄酮含有量存在较大差异,分化明显,该结果与郭美丽等<sup>[19]</sup>对红花种质资源的品质评价的研究结果相似,这为高品质红花品种的遗传选育提供了依据。印度红花(IND-1)、山东红花(SD-2)、德国红花(DEU-1)和叙利亚红花(SYR-1)的羟基红花黄色素 A 含有量最高,分别为3.847%、3.369%、3.202%、2.869%,均高于刘雅新等<sup>[20]</sup>测得的含有量;而且芦丁和槲皮素含有量也较高,表明这些地区的红花资源质量较优,适宜作为红花育种的候选材料。木犀草素主要存在于植物的叶、茎和枝干中,已在菊花中测得,但在红花中尚未有相关报道<sup>[21]</sup>。本研究从花中测得木犀草素,发现其含有量平均值为0.069%,远远低于其他黄酮类成分含有量,但是该值与韩炜等<sup>[22]</sup>在红花地上部分测得的木犀草素的平均含有量0.0549%相近,表明木犀草素含有量低可能是因为其本就在红花中含有量相对较少,而与所选取的植物部位无关。由于长期的自然和人工选择,红花品种中化学成分和药理活性在种内发生了变异。一些来源相同的红花品种其黄酮含有量表现出较大的差异,如源自云南的YN-14,其各项黄酮类成分含有量均低于其他云南红花。同时,有一些来自不同地区的红花其黄酮成分含有量表现出相似性,如以色列红花(ISR-1)与阿根廷红花(ARG-1),这可能是因为这些红花资源种植在同一环境条件下时,其在性状上表现出相似的生态适应性。以上结果表明,不同品种红花黄酮含有量可能存在显著性差异,也可能存在相似性,故对红花中多种黄酮类进行同步测定以更加全面的反映其内在质量。

据现有报道<sup>[23-24]</sup>,红花有不同的花色,不同品种红花在不同的开花时期其花色会发生改变,不同花色的红花其黄酮类成分含有量和药效也存在一定的差异,但是相关作用机制的研究报道甚少,亦有待研。

参考文献:

- [ 1 ] 胡尊红,王沛琦,杨 谨,等.红花分子标记研究进展[J].分子植物育种,2017,15(9):3586-3591.
- [ 2 ] Ashrafi E, Razmjoo K. Effect of irrigation regimes on oil content and composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars [J]. *J Am Oil Chem' Soc*, 2010, 87(5): 499-506.
- [ 3 ] Bagmohammadi H, Pahlevani M, Ahmadikhah A, et al. Genetic variation of safflower (*Carthamus Tinctorius* L.) and related species revealed by ISSR analysis [J]. *Plant Breed Seed Sci*, 2014, 66(1): 139-150.
- [ 4 ] 吴应祥,黎大爵.红花[M].北京:中国农业出版社,1982.
- [ 5 ] 江苏新医学院编.中药大词典[M].上海:上海科学技术出版社,1986:992.
- [ 6 ] Zhou X, Tang L, Xu Y, et al. Towards a better understanding of medicinal uses of *Carthamus tinctorius* L. in traditional Chinese medicine: A phytochemical and pharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 27-43.
- [ 7 ] Wan L H, Chen J, Li L, et al. Protective effects of *Carthamus tinctorius* injection on isoprenaline-induced myocardial injury in rats [J]. *Pharm Biol*, 2011, 49(11): 1204-1209.
- [ 8 ] Arpomsuwan T, Petvises S, Thimuam A, et al. Effects of *Carthamus tinctorius* L. solvent extracts on anti-proliferation of human colon cancer (SW 620 cell line) via apoptosis and the growth promotion of lymphocytes [J]. *Songklanakarinn J Sci Technol*, 2012, 34(1): 45-51.
- [ 9 ] Wu S, Yue Y, Tian H, et al. *Carthamus* red from *Carthamus tinctorius* L. exerts antioxidant and hepatoprotective effect against CCl<sub>4</sub> (4) -induced liver damage in rats via the Nrf2 pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(2): 570-578.
- [ 10 ] Kong D, Xia W, Zhang Z, et al. Safflower yellow injection combined with conventional therapy in treating unstable angina pectoris: a meta-analysis [J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33(5): 553-561.
- [ 11 ] Nguyen T T, Tran E, Nguyen T H, et al. The role of activated MEK-ERK pathway in quercetin-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(5): 647-659.
- [ 12 ] 韩 炜,邢 燕,康廷国.木犀草素生物活性研究进展[J].云南中医中药杂志,2010,31(4):60-62.
- [ 13 ] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志物(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J].中草药,2016,47(9):1443-1457.
- [ 14 ] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2010年版二部[S].北京:化学工业出版社,2010:103-104.
- [ 15 ] 徐森玲,万海同,金 湛,等. HPLC法同时分离纯化红花中2种成分[J].中成药,2017,39(2):436-439.
- [ 16 ] 何 婷,李柯翱,季志红,等. HPLC同时测定红花药材中4种化学成分含量[J].中国中医药信息杂志,2017,24(4):79-82.
- [ 17 ] 伊丽娜,晶晶,特日格乐,等. HPLC法测定红花茎叶中三种化学成分的含量[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(58):111-112.
- [ 18 ] 郑毓珍,卢静华,孙玉琦. HPLC法同时测定白梅花中6种黄酮类成分[J].中成药,2018,40(9):2007-2010.
- [ 19 ] 郭美丽,张 戈,章 伟,等.红花种质资源的品质评价及其遗传稳定性研究[C]//2004年中国药学会学术年会论文集.昆明:中国药学会,2004.
- [ 20 ] 刘雅新,刘珊珊,谭 勇,等.新疆不同产地红花质量评价[J].中成药,2014,36(1):141-144.
- [ 21 ] 申海进,郭巧生,房海灵,等. RP-HPLC测定野菊花中槲皮素、木犀草素、芹菜素和刺槐素[J].中国中药杂志,2010,35(2):191-193.
- [ 22 ] 韩 炜,杨玉林,康廷国. HPLC法测定红花地上部分中木犀草苷和木犀草素的含量[J].中华中医药学刊,2010,28(6):1315-1317.
- [ 23 ] Li R, Guo M, Zhang G, et al. Neuroprotection of nicotiflorin in permanent focal cerebral ischemia and in neuronal cultures [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(9): 1868-1872.
- [ 24 ] 徐红霞,吴沂芸,裴 瑾,等.红花黄酮类成分与其色度值相关性研究[J].中药材,2018,41(1):49-54.