川貝母

圖 1(i)　川貝母乾燥鱗莖外觀圖

A. 鱗莖　B. 鱗莖放大圖

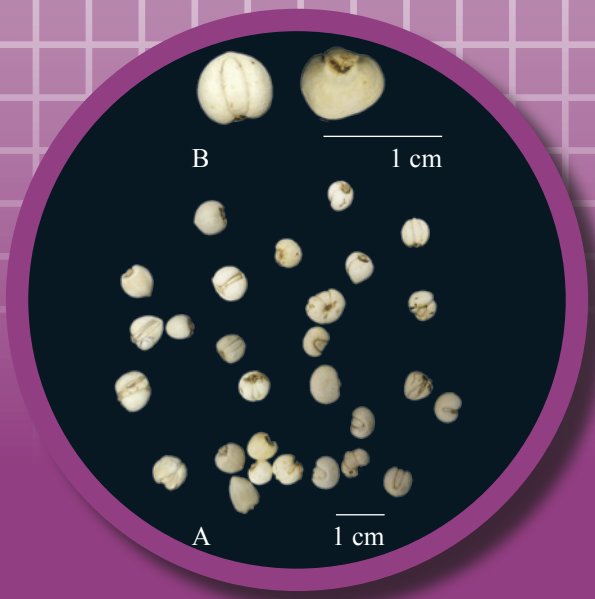

圖 1(ii)　暗紫貝母乾燥鱗莖外觀圖

A. 鱗莖　B. 鱗莖放大圖

1. 名稱

藥材正名：Fritillariae Cirrhosae Bulbus

中文名：川貝母

漢語拼音名：Chuanbeimu

2. 來源

本品為百合科植物川貝母 *Fritillaria cirrhosa* D. Don、暗紫貝母 *Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia 的乾燥鱗莖。夏、秋二季採挖，除去鬚根、粗皮及泥沙，曬乾或低溫(40°C-50°C)乾燥。

3. 性狀

川貝母：本品呈類圓錐形或類球形，有的近扁圓形，高 0.4-1.4 cm，直徑 4-16 mm。表面類白色。外層鱗葉 2 瓣，大小懸殊，大瓣緊抱小瓣，未抱部分呈新月形，習稱“懷中抱月”。頂部閉合，內有類圓柱形、頂端稍尖的心芽和小鱗葉 1-2 枚；先端鈍圓或稍尖，底部平，微凹入，中心有 1 灰棕色的鱗莖盤，偶有殘存鬚根。質硬而脆，斷面白色，富粉性。氣微，味微苦[圖 1(i)]。

暗紫貝母：較小，高 0.3-0.8 cm，直徑 3-9 mm [圖 1 (ii)]。

4. 鑒別

4.1 顯微鑒別 *(附錄 III)*

橫切面

鱗葉的外表皮和內表皮由 1 層細胞組成，類方形或類長方形。薄壁細胞圓形，充滿澱粉粒。導管細小，散在薄壁組織中 [圖 2 (i) 和 (ii)]。

粉末

類白色至淡黃色。澱粉粒甚多，寬卵形、長球形或不規則球形，有的邊緣不平整或略呈分枝狀，直徑 5-64 μm，臍點短裂隙狀、點狀、人字狀或馬蹄狀，層紋隱約可見；偏光顯微鏡下呈黑十字狀。表皮細胞類長方形，垂周壁波狀彎曲，偶見不定式氣孔，圓形至扁圓形。螺紋導管直徑 5-46 μm [圖 3 (i) 和 (ii)]。

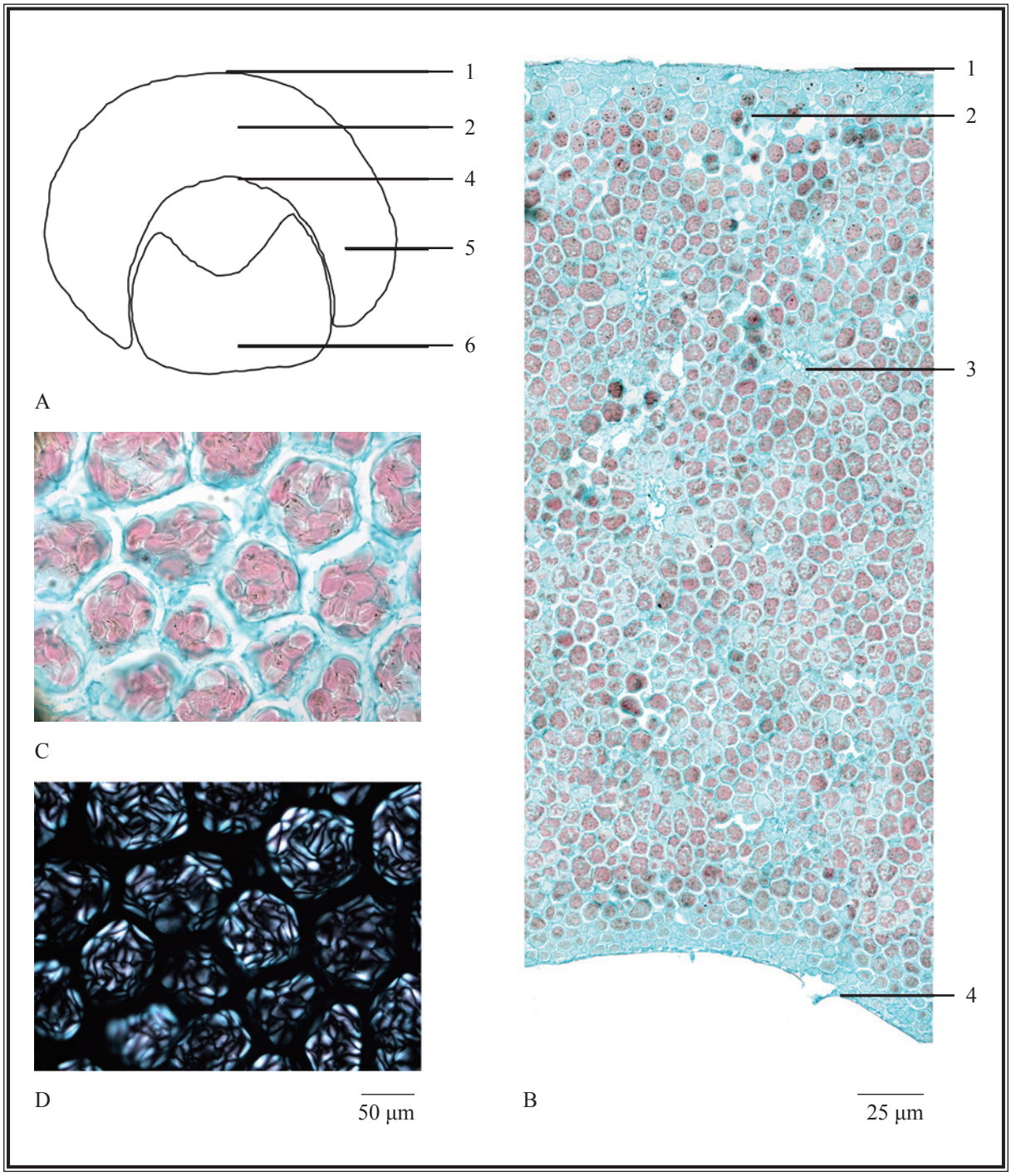

圖 2(i) 川貝母乾燥鱗莖橫切面特徵圖

A. 簡圖 B. 鱗葉橫切面圖 C. 澱粉粒(光學顯微鏡下)
D. 澱粉粒(偏光顯微鏡下)

1. 外表皮 2. 薄壁組織 3. 導管 4. 內表皮 5. 大鱗葉 6. 小鱗葉

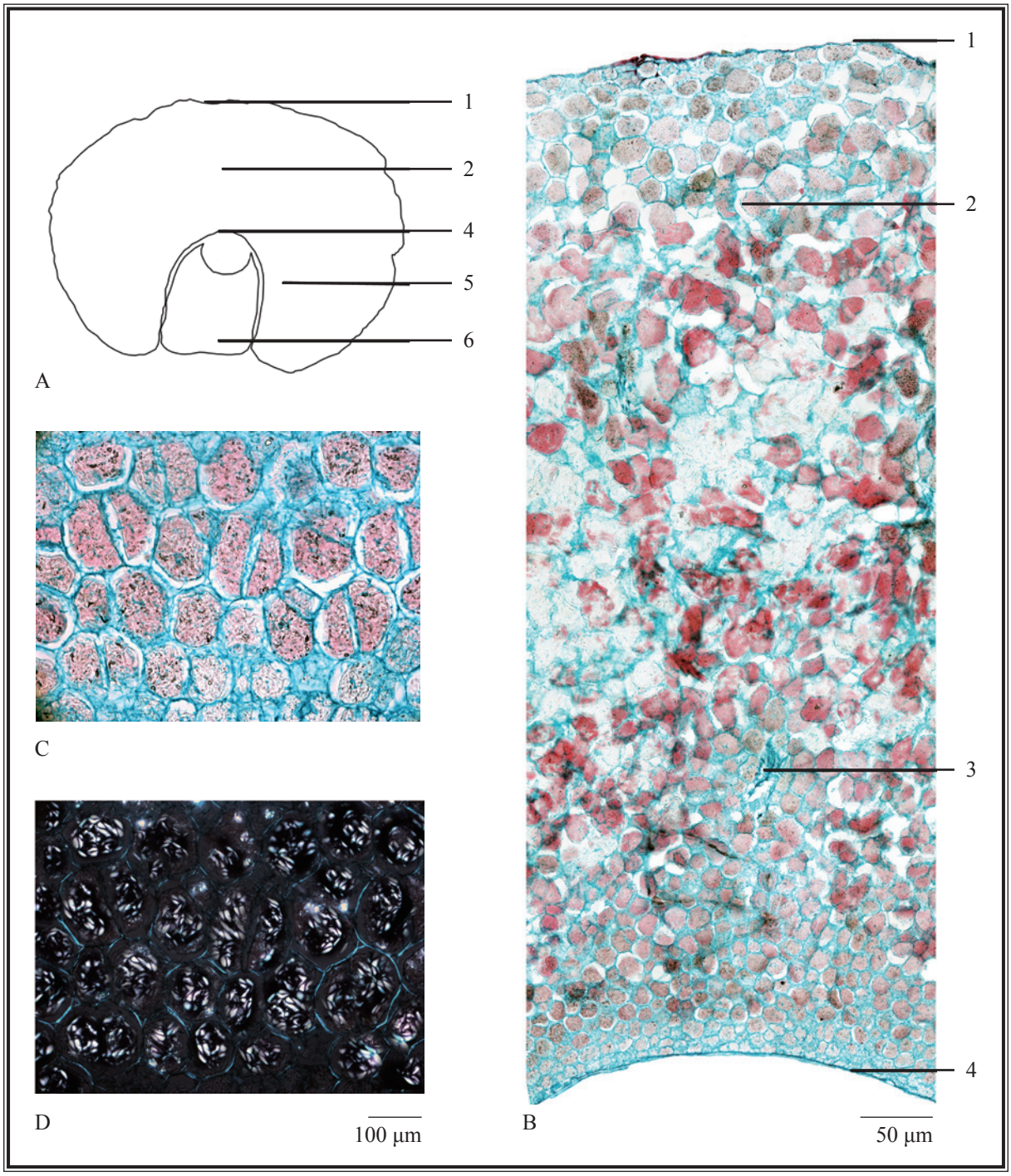

圖 2(ii) 暗紫貝母乾燥鱗莖橫切面特徵圖

A. 簡圖 B. 鱗葉橫切面圖 C. 澱粉粒(光學顯微鏡下)
D. 澱粉粒(偏光顯微鏡下)

1. 外表皮 2. 薄壁組織 3. 導管 4. 內表皮 5. 大鱗葉 6. 小鱗葉

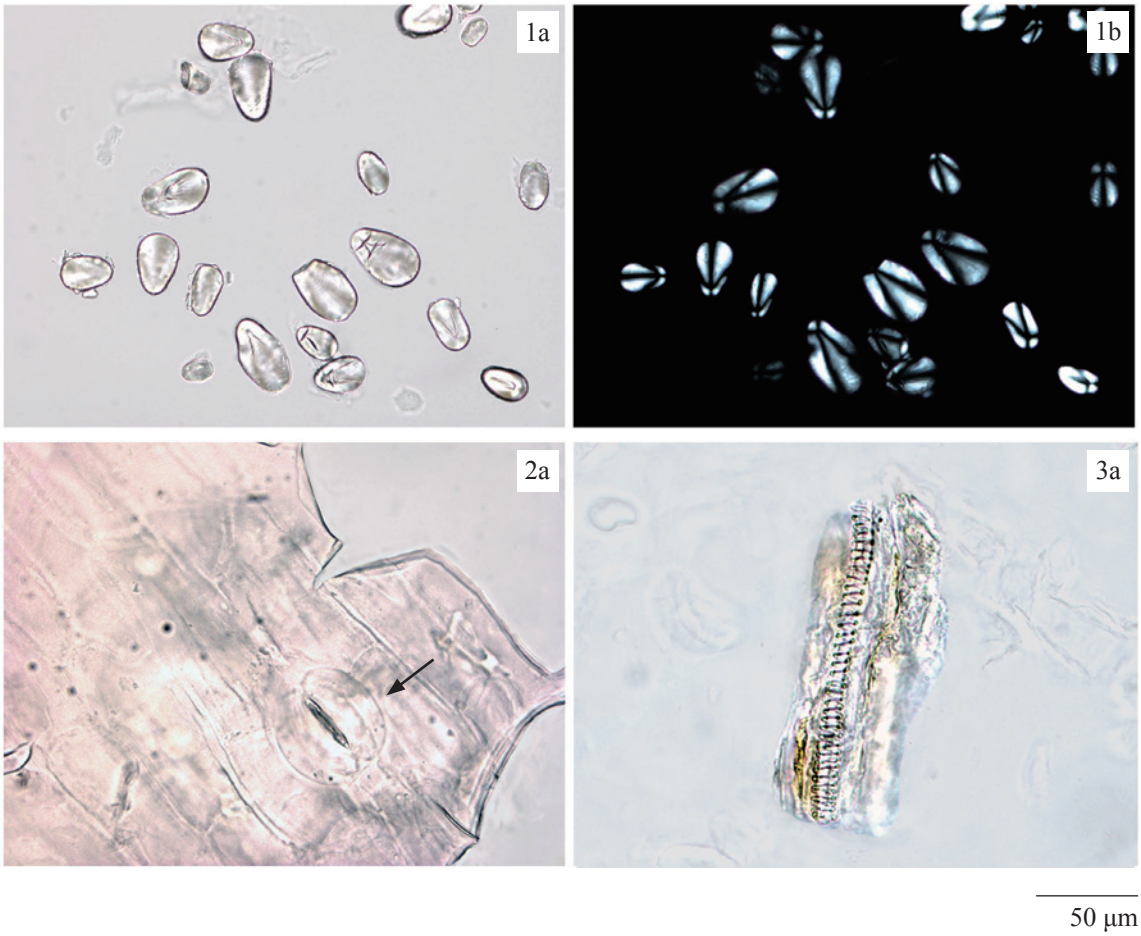

圖 3(i) 川貝母乾燥鱗莖粉末顯微特徵圖

1. 澱粉粒　2. 表皮細胞與氣孔(⟶)　3. 螺紋導管

a. 光學顯微鏡下特徵　b. 偏光顯微鏡下特徵

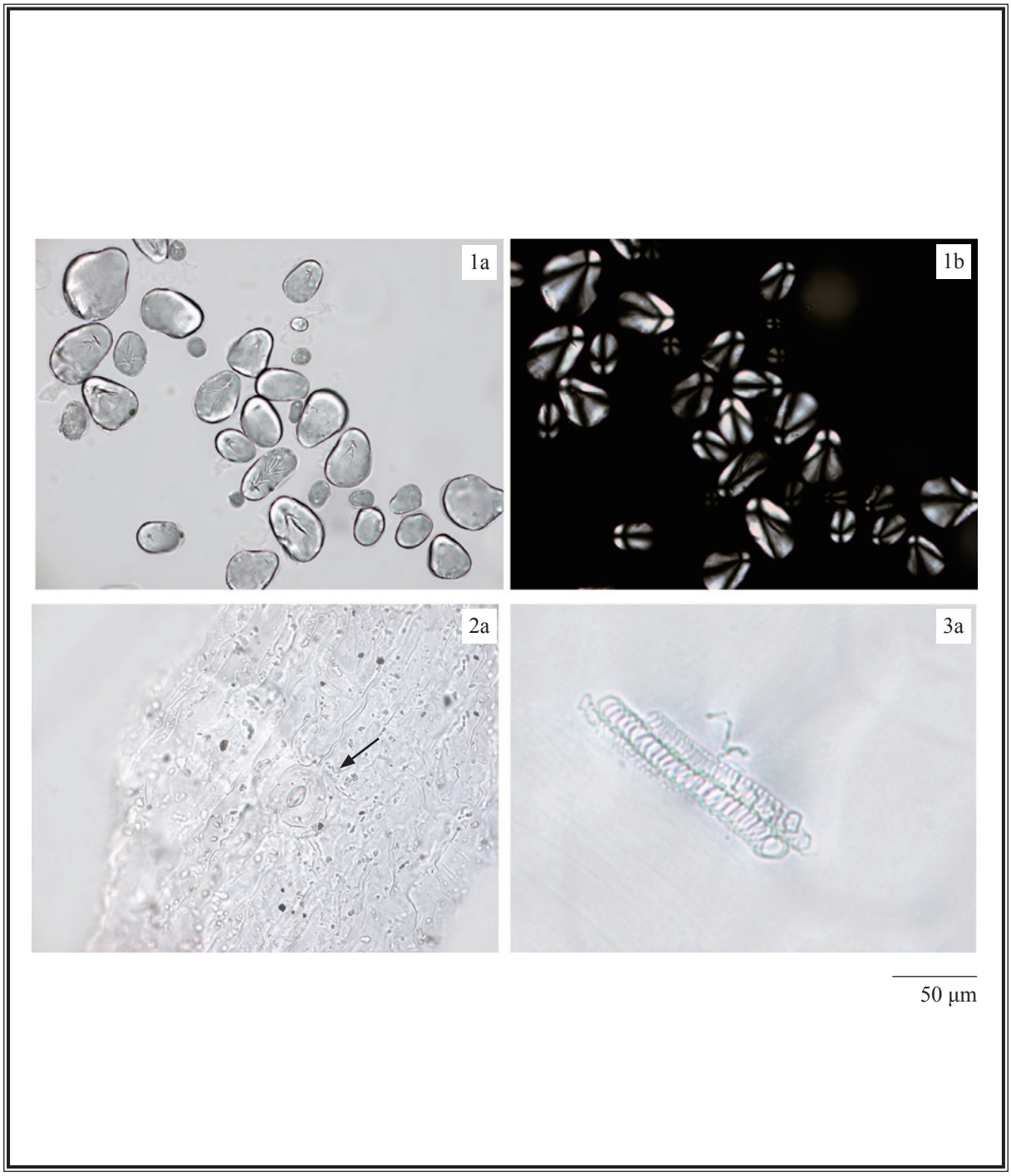

圖 3(ii) 暗紫貝母乾燥鱗莖粉末顯微特徵圖

1. 澱粉粒 2. 表皮細胞與氣孔(⟶) 3. 螺紋導管

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

4.2 薄層色譜鑒別 *[附錄 IV(A)]*

對照品溶液

貝母辛對照品溶液

取貝母辛對照品(圖 4) 0.5 mg，溶解於 1 mL 甲醇中。

展開劑

製備乙酸乙酯 – 甲醇 – 25% (v/v)氨溶液 – 水 (18:2:1:0.1, v/v) 的混合溶液。

顯色劑

取香草醛 1 g，溶解於 100 mL 硫酸中。

供試品溶液

取本品粉末 5.0 g，置 50-mL 錐形瓶中，加 25% (v/v)氨溶液 5 mL 和二氯甲烷 30 mL，超聲(100 W)處理 1 小時，濾過。取濾液轉移於 50-mL 圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器減壓蒸乾，殘渣溶於 1 mL 甲醇，即得。

操作程序

照薄層色譜法 [附錄 IV(A)] 進行。分別吸取貝母辛對照品溶液 2 μL 和供試品溶液 12 μL，點於同一硅膠 F_{254} 薄層板上。將薄層板置雙槽層析缸一槽中，加上述新製備的展開劑於另一槽內，預先飽和 15 分鐘，再將展開劑小心傾入置薄層板的槽中，展開約 7 cm，取出，標記溶劑前沿，晾乾。均勻噴上顯色劑，晾乾。置紫外光 (366 nm) 下檢視，並計算 R_f 值。

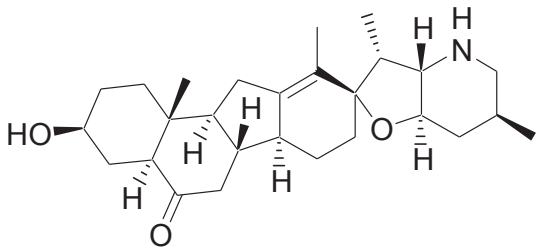

圖 4 貝母辛化學結構式

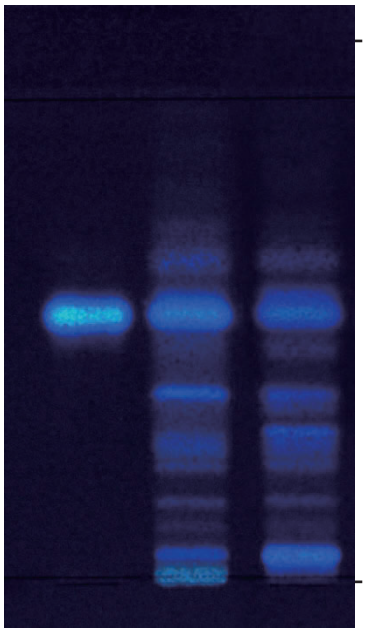

圖 5 川貝母提取液對照薄層色譜圖（顯色後在紫外光 366 nm 下檢視）

1. 貝母辛對照品溶液
2. 供試品溶液
(i) 川貝母乾燥鱗莖
(ii) 暗紫貝母乾燥鱗莖

供試品色譜應顯出與貝母辛色澤相同、R_f值相應的特徵斑點或條帶（圖 5）。

4.3 基於聚合酶鏈反應限制性片段長度多態性法（PCR-RFLP）鑒定川貝母*（附錄 XV）*

照附錄 XV 進行。

PCR-RFLP 法所用引物序列
ITS-P1: 5’-CGT AAC AAG GTT TCC GTA GGT GAA-3’
ITS-P3: 5’-GCT ACG TTC TTC ATC GAT-3’

DNA 的提取

精密稱取本品粉末 20 mg，置 1.5-mL 微量離心管中，根據植物 DNA 提取試劑盒的流程提取 DNA。簡單來講，首先加入清潔劑或表面活性劑將細胞表面膜脂去除並破碎細胞；隨後加入 RNA 水解酶除去樣品中的 RNA；然後，加入乙醇溶液沉澱 DNA；分離得到 DNA 後，將樣品溶解於 TE 緩衝液或者超純水中，備用。

實驗過程

首先應用 PCR 法分析空白樣品和提取好的 DNA 樣品(包括重複樣品)，然後通過凝膠電泳法檢測上述 PCR 產物，通過與 DNA 標準物的比對測定 PCR 產物的片段大小。然後，以 *Sma I* 作為限制性內切酶對 PCR 產物進行酶切(總反應體積為 20 μL)，所得產物進行凝膠電泳的分析和檢測，同樣通過與 DNA 標準物的比對測定 RFLP 產物的片段大小。

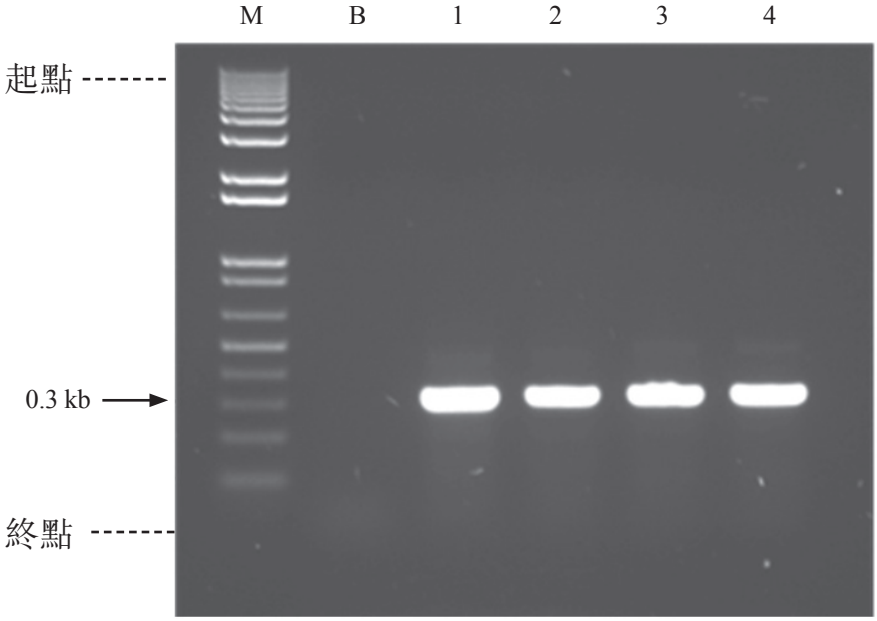

圖 6 四批川貝母(1-4)及空白樣品(B)的 ITS1 區域 PCR 產物的擴增條帶，引物為 ITS-P1 和 ITS-P3。

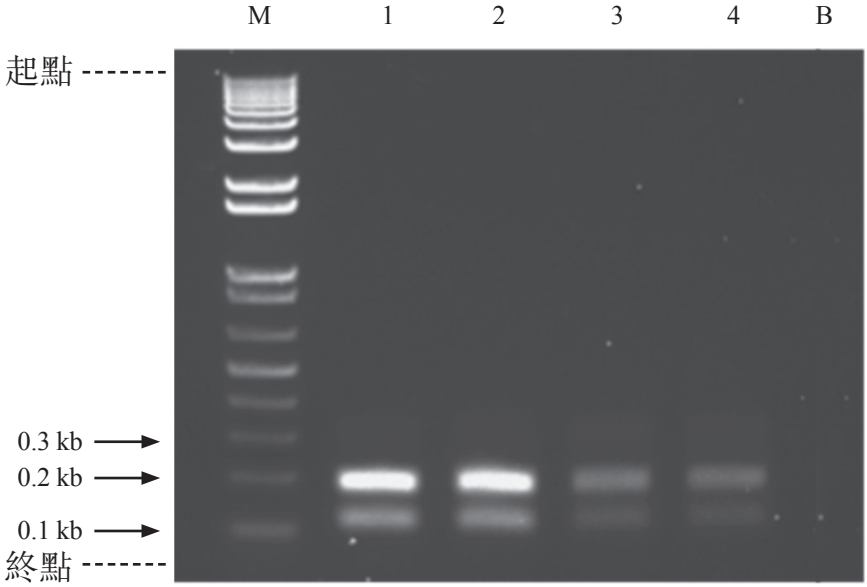

圖 7 川貝母 PCR 產物經 *Sma I* 酶切後的產物對照圖譜
M：1 kb DNA 標準對照　B：空白對照　1-2：川貝母　3-4：暗紫貝母

陽性鑒定結果顯示，川貝母及其重複樣本的 PCR 產物會產生一條 0.3 kb 條帶，該條帶經特異性內切酶 *Sma I* 酶切後，產生兩條介於 ~ 0.1 - 0.2 kb 間的條帶，而空白樣品則無相應條帶。

5. 檢查

5.1 重金屬*(附錄 V)*：應符合有關規定。

5.2 農藥殘留*(附錄 VI)*：應符合有關規定。

5.3 霉菌毒素 – 黃曲霉毒素*(附錄 VII)*：應符合有關規定。

5.4 二氧化硫殘留*(附錄 XVII)*：應符合有關規定。

5.5 雜質*(附錄 VIII)*：不多於 3.0%。

5.6 灰分*(附錄 IX)*

總灰分：不多於 2.0%。
酸不溶性灰分：不多於 1.0%。

5.7 水分*(附錄 X)*

烘乾法：不多於 15.0%。

6. 浸出物*(附錄 XI)*

水溶性浸出物(熱浸法)：不少於 8.0%。
醇溶性浸出物(熱浸法)：不少於 9.0%。

7. 含量測定

照附錄 XIV 進行。

試劑
0.2 M 氫氧化鈉溶液
取氫氧化鈉 0.4 g，溶解於 50 mL 水中。
溴甲酚綠溶液
取溴甲酚綠 0.05 g，溶解於 6 mL 0.2 M 氫氧化鈉溶液中。取溶液轉移於 100-mL 量瓶中，加 1 g 磷酸二氫鉀，加水至刻度。

對照品溶液
貝母辛對照品儲備液 Std-Stock (500 mg/L)
精密稱取貝母辛對照品 5.0 mg，溶解於 10 mL 二氯甲烷中。
貝母辛對照品溶液 Std-AS
精密吸取貝母辛對照品儲備液適量，置於 50-mL 圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器減壓蒸乾。精密加入 10 mL 二氯甲烷，使殘渣溶解。照比色法，分別製備 2.5、5、12.5、25、37.5 mg/L 系列的對照品溶液。

供試品溶液
精密稱取本品粉末 2.0 g，置 250-mL 圓底燒瓶中，加 25% (v/v) 氨溶液 3 mL，靜置 1 小時，加二氯甲烷－甲醇 (4:1, v/v) 的混合溶液 40 mL，加熱回流 2 小時，冷卻至室溫，濾過。取濾液轉移於 50-mL 量瓶中，殘渣用二氯甲烷－甲醇 (4:1, v/v) 的混合溶液洗滌 2 次，每次 2 mL，合併提取液，加二氯甲烷－甲醇 (4:1, v/v) 的混合溶液至刻度，精密吸取 8 mL 溶液於 50-mL 圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器減壓蒸乾，精密加入 10 mL 二氯甲烷，使殘渣溶解，即得。

空白溶液

精密加入 10 mL 二氯甲烷於 50-mL 圓底燒瓶中，即得。

紫外 - 可見分光光度系統

紫外 - 可見分光光度計的檢測波長設為 415 nm。

比色法

精密吸取水 5 mL 和溴甲酚綠溶液 2 mL，加入含對照品、供試品或空白溶液的 50-mL 圓底燒瓶中，振搖 2 分鐘，轉移於 50-mL 分液漏斗中，靜置 30 分鐘。取二氯甲烷層，在 415 nm 波長處測定吸收度。

系統適用性要求

將貝母辛對照品溶液 Std-AS（12.5 mg/L）0.25 mL，按比色法測定，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：貝母辛的吸光度值相對標準偏差應不大於 5.0%。

標準曲綫

將貝母辛系列對照品溶液 Std-AS 各 0.25 mL，按比色法測定，並記錄吸光度值。以貝母辛的吸光度與相應濃度作圖。從相應 5 點的標準曲綫得斜率、截距與相關系數。

操作程序

按比色法測定吸光度，依附錄 XIV 公式計算供試品溶液中貝母辛的濃度（mg/L），並計算樣品中貝母辛的百分含量。

限度

按乾燥品計算，本品含總生物鹼 [以貝母辛（$C_{21}H_{41}NO_3$）計] 不少於 0.030%。