

·中药制剂与分析·

本文引用:刘湘丹,陈 勋,刘畅宇,裴 刚,周日宝,王 智,陈乃宏.不同来源百合药材的质量评价及分析[J].湖南中医药大学学报,2019,39(4):480-484.

不同来源百合药材的质量评价及分析

刘湘丹^{1,2},陈 勋¹,刘畅宇¹,裴 刚^{1,2},周日宝¹,王 智¹,陈乃宏^{1,2,3*}

(1.湖南中医药大学药学院,湖南 长沙 410208;2.湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心,湖南 长沙 410208;
3.中国医学科学院北京协和医学院药物研究所,北京 100050)

[摘要] 目的 基于水分、浸出物、多糖、Regaloside A 含量进行不同来源百合药材质量评价及分析,为多基原百合药材鉴别及质量评价提供依据。**方法** 按照 2015 版《中华人民共和国药典》方法测定水分、浸出物;采用紫外分光光度法测定百合多糖含量;采用高效液相色谱法测定 Regaloside A 含量:Supersil ODS-B(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μL,流速为 1.0 mL/min,流动相 0.1% 磷酸水溶液:乙腈=85:15(V/V),检测波长为 310 nm。结果 54 批百合样品水分均≤13%;43 批百合样品浸出物≥18%,11 批百合样品浸出物<18%;54 批百合样品多糖含量区间为 9.89%~23.42%;54 批百合样品 Regaloside A 含量区间为 0.019%~0.599%。**结论** 所有百合样品水分均符合药典要求;11 批百合药材浸出物未达到药典要求,且均为龙牙百合药材;17 批百合多糖含量未达湖南省地方标准;卷丹百合浸出物和 Regaloside A 含量均普遍高于市购龙牙百合药材。该研究为市场药用百合以卷丹百合为主提供了佐证,为不同来源百合鉴别及百合药材质量控制提供了参考依据。

[关键词] 百合;水分;浸出物;多糖;Regaloside A;含量测定;质量评价

[中图分类号]R284.1

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.04.010

Quality Evaluation and Analysis of Lilii Bulbus from Different Sources

LIU Xiangdan^{1,2}, CHEN Xun¹, LIU Changyu¹, PEI Gang^{1,2}, ZHOU Ribao¹, WANG Zhi¹, CHEN Naihong^{1,2,3*}

(1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Traditional Chinese Medicine Piece Standardization and Function Technology Research Center, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate and analyze the quality of Lilii Bulbus from different sources by the contents of moisture, bulbus extract, polysaccharides and Regaloside A, so as to provide the basis for identification and quality control of polybasic lilium. **Methods** Moisture and bulbus extract were determined according to the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. Polysaccharides was determined by ultraviolet spectrophotometry. Regaloside A was determined by high performance liquid chromatography. The column was a Supersil ODS-B column (250 mm×4.60 mm, 5 μm). The column emperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. The flow rate was 1.0 mL/min, the mobile phase 0.1% phosphoric acid aqueous solution-acetonitrile volume ratio of 85:15 (V/V). The detection wavelength was at 310 nm. **Results** The moisture contents of 54 batches of Lilii Bulbus were all less than 13%. The bulbus extracts of 43 batches of Lilii Bulbus were greater than 18%, and the bulbus extracts of the other 11 batches of Lilii Bulbus were less than 18%. The polysaccharidse contents of 54 batches of Lilii Bulbus range from 9.89% to 23.42%. The Regaloside A content range of 54 batches of Lilii Bulbus was 0.019%~0.599%. **Conclusion** The moisture of 54 batches of Lilii Bulbus all meets the requirements of *Chinese*

[收稿日期]2018-08-16

[基金项目]国家中医药管理局中药标准化项目(ZYBZH-Y-HUN-24);中央引导地方科技发展专项资金项目(2017XF5044);湖湘中药资源保护与利用 2011 协同创新中心(湘教通[2015]351);湖南省一流学科中药学(校行科字[2018]3 号);湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心开放基金资助项目(2018-5)。

[作者简介]刘湘丹,女,博士,副教授,主要从事中药资源与质量研究。

[通讯作者]*陈乃宏,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:chennh@imm.ac.cn。

Pharmacopoeia. The bulbus extract of 11 batches of *Lilii Bulbus* were unqualified, which are all from *LongYa Lilii Bulbus*. The mean polysaccharide content of *Lilii Bulbus* from different sources was not significantly different. The bulbus extract and Regaloside A contents of *Juan dan Lilii Bulbus* were generally higher than those of *Long Ya Lilii Bulbus* on the market, which provided evidence for the fact that *Juan Dan Lilii Bulbus* was the main medicinal material in the market. This study can provide more references for identification and quality control of *Lilii Bulbus* from different sources.

[Keywords] *Lilii Bulbus*; moisture; bulbus extract; polysaccharides; Regaloside A; content determination; quality evaluation

百合始载于《神农本草经》，其应用历史悠久，属药食同源品种。2015版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)记载百合来源于百合科植物卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb.、百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 或细叶百合 *Lilium pumilum* DC.的干燥肉质鳞叶^[1]。其味甘性寒，归心、肺经，有养阴润肺，宁心安神的功效，主要用于治疗肺虚久咳，劳嗽咳血，心烦失眠，情绪不能自主等病^[1]。

研究表明，药用百合鳞叶中主要含有多糖、酚酸甘油酯、甾体皂苷、甾醇、黄酮、苯丙素、多糖类、生物碱及磷脂、无机盐等成分。其中百合多糖含量高，具抗肿瘤、降血脂、抗病毒、抗突变和提高细胞免疫活性等多种生理功能^[2-5]，为百合主要功能成分之一；酚酸甘油酯亦为百合大类成分，具抗氧化、抗肿瘤、抗增殖、免疫调节及雌激素活性等生理功能^[6-8]，其中 Regaloside A 为百合酚酸甘油酯类成分之一^[9]，项目组前期预实验发现其在百合药材中相对百分含量较高，且具有显著的抗抑郁药理活性，具有潜在研究价值。

笔者收集百合药材样品过程中发现，药用百合品种主要为卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb. 和百合 *Lilium brownii* F.E. Brown var. *viridulum* Baker 两种，其中卷丹以药用为主(其干燥肉质鳞叶商品习称卷丹百合)，百合可药食两用(其干燥肉质鳞叶商品习称龙牙百合)，湖南为以上两品种主产区，主为栽培，秋季采收；细叶百合 *Lilium pumilum* DC. 的干燥肉质鳞叶市场基本不见流通。市场调查还发现，食用百合主流品种除龙牙百合外还有兰州百合 *Lilium daidai* var. *unicolor* cotton 干燥肉质鳞叶(商品习称兰州百合)，其次市场还存非药用品种如金百合(其饮片性状与卷丹百合相似)入药现象，百合为多基原药材，市场存在品种难以区分或混用现象。

基于此，本研究在 2015 版《中国药典》百合药材性状鉴别及水溶性浸出物含量基础上，增加百合大类成分多糖、Regaloside A 两个指标，对收集的药用百合品种、食用主流品种、药用混淆品及野生百合样品的质量进行评价和分析，以期为鉴定不同来源百合、行百合药材质量评价提供研究基础。

1 仪器与材料

1.1 主要仪器

超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公

司)；Waters 1525 高效液相色谱仪(配有 2489 紫外/可见检测器，二元泵)(美国沃特世公司)；ME204E/02 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)；中草药粉碎机(天津市泰式特仪器有限公司)；UV-1750 紫外可见分光光度计(日本岛津)；TDZ-5-A 离心机(上海安亭科学仪器厂)；UV1800PC 紫外分光光度计(上海奥析科学仪器有限公司)。

1.2 主要材料

无水葡萄糖(国药集团化学试剂有限公司，批号 63005518)；Regaloside A 对照品(实验室自制，纯度≥98%)；甲醇(天津市科密欧化学试剂有限公司，分析纯)；磷酸(长沙分路口塑料化工厂，分析纯)；乙腈(德国默克股份有限公司，色谱纯)；硫酸(湖南汇虹试剂有限公司，分析纯)；乙醇(安徽安特食品股份有限公司，分析纯)；蒽酮(国药集团化学试剂有限公司，分析纯)。

项目组于 2017–2018 年度共收集 54 批百合样品(包括药用百合、食用百合、百合药材混伪品、野生百合)，经湖南省药品检验研究院方石林教授、湖南中医药大学第一附属医院张志国教授、湖南中医药大学周日宝教授、刘塔斯教授、湖南农业大学谢红旗教授鉴定为百合科相关品种，具体信息见表 1。其中野生百合，为笔者野外采集，于实验室自加工用于对照。

2 方法与结果

2.1 水分

按照 2015 版《中国药典》第四部通则 0832 第二法(烘干法)对 54 批百合样品水分进行测定分析，54 批百合样品水分含量均在 13% 及以下，符合药典规定。

2.2 浸出物

按照 2015 版《中华人民共和国药典》第四部通则 2201 水溶性浸出物冷浸法，对 54 批百合样品进行浸出物测定，以干燥品计，结果见表 2。其中 S1–S21 卷丹百合样品浸出物均大于 18%，符合药典标准；S22–S47 市购百合中有 11 个样品浸出物小于 18%，未达药典标准；S48–S50 浸出物均较高，达到药典标准；所测的细叶百合、兰州百合及百合混用品金百合浸出物达到药典要求，但因收集样品少实验结果仅做参考对照。

表1 百合样品信息表

编号	收集地	来源品种	编号	收集地	来源品种	编号	收集地	来源品种
S1	湖南龙山	卷丹	S19	湖南龙山石碑	卷丹	S37	湖南享安堂	百合
S2	安徽和平村	卷丹	S20	浙江湖州	卷丹	S38	湖南博后参茸行	百合
S3	四川北川	卷丹	S21	湖南龙山	卷丹	S39	湖南高桥药材市场	百合
S4	重庆涪陵	卷丹	S22	邵阳隆回	百合	S40	湖南桂圆堂	百合
S5	浙江福州	卷丹	S23	江西万载	百合	S41	湖南鸿道源药材1	百合
S6	湖北恩施	卷丹	S24	浙江	百合	S42	湖南鸿道源药材2	百合
S7	湖南	卷丹	S25	湖南	百合	S43	湖南新参芝林	百合
S8	江西	卷丹	S26	江苏	百合	S44	湖南富贵堂参茸	百合
S9	湖南	卷丹	S27	湖南	百合	S45	河北安国市场1	百合
S10	甘肃	卷丹	S28	江苏	百合	S46	河北安国市场2	百合
S11	湖南龙山	卷丹	S29	湖南正兴虫草行1	百合	S47	河北安国市场3	百合
S12	湖南龙山	卷丹	S30	湖南正兴虫草行2	百合	S48	湖南隆回	百合
S13	湖北	卷丹	S31	湖南康绥虫草行	百合	S49	湖北恩施	野生百合
S14	湖南龙山洛塔	卷丹	S32	湖南佬伍药材行	百合	S50	湖南浏阳	野生百合
S15	安徽六安市	卷丹	S33	湖南百善堂	百合	S51	黑龙江	细叶百合
S16	湖南龙山石碑	卷丹	S34	湖南海川参茸行	百合	S52	甘肃兰州	兰州百合
S17	四川	卷丹	S35	湖南福芝堂参茸	百合	S53	甘肃兰州七里河	兰州百合
S18	贵州	卷丹	S36	湖南祥发参茸药材	百合	S54	湖南	金百合

注:收集的样品除S29-S47为市购外,其它均从产区或基地收集,产区明确

表2 不同来源百合浸出物、多糖含量表

编号	浸出物/%	多糖/%	编号	浸出物/%	多糖/%	编号	浸出物/%	多糖/%
S1	24.14	15.71	S19	24.20	13.26	S37	16.11	16.28
S2	20.63	11.45	S20	33.93	12.24	S38	15.88	16.02
S3	24.81	10.05	S21	22.77	14.78	S39	19.90	16.74
S4	23.11	13.07	S22	17.55	16.93	S40	18.65	10.27
S5	45.09	16.59	S23	15.03	15.42	S41	14.64	18.54
S6	25.13	23.42	S24	18.66	21.69	S42	18.49	20.25
S7	25.06	22.24	S25	20.03	15.36	S43	22.55	16.58
S8	25.41	16.50	S26	23.89	21.62	S44	18.62	21.21
S9	35.22	16.05	S27	21.16	10.16	S45	22.74	13.91
S10	25.77	12.57	S28	21.54	20.61	S46	14.70	17.34
S11	21.57	22.55	S29	20.32	11.82	S47	16.94	13.04
S12	24.10	16.42	S30	18.39	15.44	S48	20.71	18.30
S13	22.55	16.87	S31	17.29	10.94	S49	23.38	11.30
S14	22.27	20.43	S32	18.13	15.36	S50	28.36	17.42
S15	24.71	9.89	S33	17.19	17.65	S51	21.73	19.41
S16	25.62	13.40	S34	18.94	17.64	S52	58.01	23.92
S17	22.58	21.18	S35	16.76	13.74	S53	23.89	22.31
S18	22.38	17.14	S36	16.20	15.66	S54	20.96	15.80

2.3 多糖含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取经105℃干燥至恒重的无水葡萄糖对照品50.014 mg,置50 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 标准曲线的制备 精密量取对照品溶液1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL,分别置棕色具塞试管中,分别加0.2%蒽酮-硫酸溶液4.0 mL,混匀,迅速置冰水

浴中冷却后,置沸水浴中加热10 min,取出,置冰水浴中放置5 min,室温放置10 min,以相应试剂为空白,在580 nm的波长处测定吸光度,以浓度(C)为纵坐标,吸光度(A)为横坐标,绘制标准曲线为

$$C=0.0349 A+0.0006(r=0.9995)$$

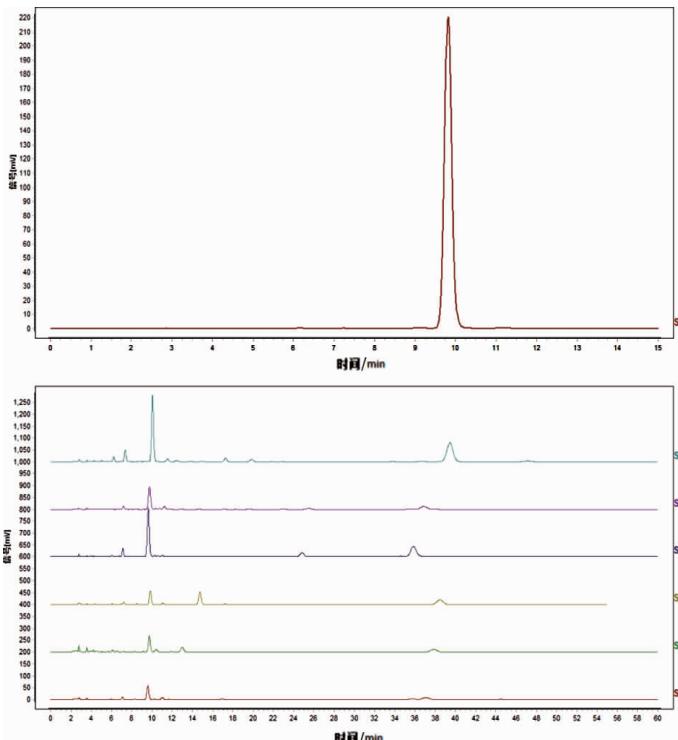
2.3.3 测定方法 取本品粉末(过四号筛)约1 g,精密称定,置圆底烧瓶中,精密加水100 mL,称定重

量,加热回流2 h,放冷,再称定重量,用水补足减失的重量,摇匀,离心,精密量取上清液1.5 mL,加乙醇7.5 mL,摇匀,离心,取沉淀加水溶解,置50 mL量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,精密量取1 mL,照“2.3.2”项下方法测定吸光度。

2.3.4 样品含量测定 取54批不同来源的百合药材,按“2.3.3”项下方法制备,按“2.3.2”项方法测定吸光度值,代入线性回归方程,计算多糖含量。本品按干燥品计算,含百合多糖以无水葡萄糖($C_6H_{12}O_6$)计,结果见表2。从表2可知54批样品多糖含量区间为9.89%~23.92%,样品间含量差异大。

2.4 Regaloside A 含量测定

2.4.1 色谱条件与系统适用性 色谱柱:Supersil ODS-B柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:0.1%磷酸水溶液:乙腈=85:15(V/V);流速:1 mL/min;柱温:30 °C;进样体积:10 μ L;检测波长:310 nm。在该色谱条件下,理论塔板数按Regaloside A峰计算不低于3 500,样品中Regaloside A与其他峰能达到基线分离,分离度大于1.5,保留时间在9.8 min左右。相关色谱图见图1。



注:A.对照品;S6.卷丹百合样品;S5.龙牙百合样品;S4.野生百合样品;
S3.细叶百合样品;S2.兰州百合样品;S1.金百合样品

图1 百合样品中Regaloside A的HPLC图

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取Regaloside A对照品7.5 mg,置于25 mL容量瓶中,用75%甲醇溶解并稀释至刻度,制得浓度为0.3 mg/mL的Regaloside A对照品溶液,经0.22 μ m微孔滤膜过滤,

密封,低温避光保存,备用。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密称取(过四号筛)百合样品粉末3 g置带塞锥形瓶中,加入75%甲醇溶液60 mL,称重,静置2 h后,室温超声30 min,待冷却用75%甲醇补重,取上清液过0.22 μ m微孔滤膜,制得供试品溶液。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取“2.4.2”项下制得的对照品溶液,加75%甲醇制成浓度分别为0.01、0.02、0.05、0.1、0.15、0.2 mg/mL的系列对照品溶液。精密吸取10 μ L上述各浓度的对照品溶液,分别进样并按照“2.4.1”项下色谱条件进行测定,记录Regaloside A峰面积。以Regaloside A峰面积(A)为纵坐标,Regaloside A的质量浓度(C, mg/mL)为横坐标,绘制标准曲线,得到回归方程

$$A=29\ 135\ 433.236\ 5C-35\ 293.602\ 6 \quad (r=0.999\ 8)$$

结果表明,Regaloside A质量浓度在0.01~0.2 mg/mL范围内线性关系良好。

2.4.5 精密度试验 精密称取S23号样品粉末3 g,按“2.4.3”项下方法制得供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件连续进样6次并记录Regaloside A峰面积。计算Regaloside A峰面积的RSD为0.67%(n=6),表明所用仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 精密称取S23号样品粉末3 g,按“2.4.3”项下方法制得供试品溶液,分别于制备后的1、4、6、8、10、24 h按照“2.4.1”项下色谱条件进行检测,并记录Regaloside A的峰面积。结果Regaloside A峰面积的RSD为1.25%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.4.7 重复性试验 精密称取6份S23号样品粉末3 g,按“2.4.3”项下方法制得供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件分别进行高效液相测定并记录Regaloside A峰面积。结果峰面积的RSD为1.28%(n=6),表明本方法的重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 分别精密称取6份S23号样品各1.5 g于锥形瓶中,加入57.2 mL 75%的甲醇和2.8 mL“2.4.2”项下的对照品溶液,称重,静置2 h,超声30 min,补重,取上清液,过0.22 μ m微孔滤膜,进样测定,记录Regaloside A峰面积,计算回收率为(101.87±1.25)% (n=6)。

2.4.9 样品含量测定 取54批不同来源的百合药材,按“2.4.3”项下方法制备,按“2.4.1”项色谱条件进行峰面积测定,代入线性回归方程,计算Regaloside A含量,54批百合样品Regaloside A含量区间为0.019%~0.599%,样品间含量差异较大。结果见表3。

表3 不同来源百合 Regaloside A 含量测定结果表(%)

编号	Regaloside A 含量	编号	Regaloside A 含量	编号	Regaloside A 含量	编号	Regaloside A 含量	编号	Regaloside A 含量
S1	0.272	S10	0.202	S19	0.223	S28	0.036	S37	0.069
S2	0.161	S11	0.234	S20	0.220	S29	0.071	S38	0.088
S3	0.183	S12	0.264	S21	0.207	S30	0.070	S39	0.067
S4	0.199	S13	0.194	S22	0.100	S31	0.094	S40	0.093
S5	0.243	S14	0.221	S23	0.050	S32	0.082	S41	0.070
S6	0.189	S15	0.347	S24	0.144	S33	0.077	S42	0.051
S7	0.213	S16	0.290	S25	0.100	S34	0.072	S43	0.132
S8	0.301	S17	0.185	S26	0.036	S35	0.095	S44	0.069
S9	0.279	S18	0.257	S27	0.122	S36	0.072	S45	0.057
									0.058

3 讨论

本研究主要进行卷丹百合与市购龙牙百合质量评价和分析,其它来源百合因样本量少仅做参考对照。

3.1 由表2可知,21批卷丹百合浸出物含量范围为20.63%~45.09%,平均含量为25.76%;26批市购龙牙百合浸出物含量范围为14.64%~23.89%,其中11个样未达药典标准,其平均百分含量为18.47%,卷丹百合浸出物明显高于市购龙牙百合浸出物;5~6月采野生百合和5月份采栽培龙牙百合浸出物高于市购龙牙百合浸出物。所有百合样品中仅37批百合样品多糖含量≥15%,达湖南龙山百合地方标准(多糖含量≥15%)^[10],其中21批卷丹百合多糖含量范围为11.45%~23.42%,平均含量为15.99%,26批市购龙牙百合多糖含量范围为10.16%~21.69%,平均含量为16.16%。

3.2 本试验建立的Regaloside A含量HPLC测定方法操作简单、灵敏度高、重复性好,可用于百合药材中该成分的含量测定。不同来源百合中Regaloside A含量存在差异:21批卷丹百合Regaloside A含量范围为0.161%~0.347%,均值为0.233%;26批市购龙牙百合Regaloside A含量范围为0.036%~0.144%,均值为0.078%;5月份采基地龙牙百合Regaloside A含量为0.253%;野生百合Regaloside A含量范围为0.203%~0.599%,均值为0.401%;细叶百合Regaloside A含量较低,为0.056%;兰州百合Regaloside A平均含量低,为0.043%;金百合Regaloside A含量低,为0.058%。

以上试验结果表明,卷丹百合浸出物、Regaloside A含量均显著高于市购龙牙百合,其为市场中药百合以卷丹百合为主提供了佐证;5月份采基地龙牙百合及野生百合浸出物、Regaloside A含量均显著高于市购龙牙百合,提示百合栽培技术和采收

期可能还有一定的研究空间,卷丹百合、龙牙百合、细叶百合、兰州百合可通过饮片形状、性味进行鉴别区分,金百合与卷丹百合性状相似常为市场药用百合混用品,因其Regaloside A含量较卷丹百合明显低,因此可通过测定Regaloside A含量与卷丹百合区分鉴别。

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,2015:132~132.
- [2] 朱 泉,韩永斌,顾振新,等.百合多糖研究进展[J].食品工业科技,2012,33(11):370~374.
- [3] HOU R, JIN C, YUE C, et al. Modification of lily polysaccharide by selenylation and the immune-enhancing activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142(1):73~81.
- [4] ZHANG T, GAO J, JIN Z Y, et al. Protective effects of polysaccharides from *Lilium lancifolium* on streptozotocin-induced diabetic mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65(4):436~440.
- [5] 侯 进,朱永香,李 宇,等.百合多糖与二甲双胍联用对人类肝癌细胞 HepG2 株抑制作用[J].辽宁中医药大学学报,2017,19(6):43~45.
- [6] 聂 慧,严 辉,钱大玮,等.百合药材 UPLC 特征图谱及特征峰 QTOF-MS 分析研究[J].中药材,2013,36(7):1087~1092.
- [7] LUO J G, LI L, KONG L Y. Preparative separation of phenylpropenoid glycerides from the bulbs of *Lilium lancifolium* by high-speed counter-current chromatography and evaluation of their antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2012, 131: 1056~1062.
- [8] CHENG W Y, KUO Y H, HUANG C J. Isolation and identification of novel estrogenic compound in yam tuber (*Dioscorea alata* Cv. Tainung No.2) [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2007, 55(18): 7350~7358.
- [9] 罗林明,裴 刚,覃 丽,等.中药百合化学成分及药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2017,28(6):824~837.
- [10] 湖南省龙山百合地方标准(DB 43/T 753-2013)[S].长沙:湖南省质量技术监督局,2012.