

海南省药品监督管理局中药配方颗粒质量标准征求意见稿

土鳖虫（地鳖）配方颗粒

Tubiechong(Dibie) Peifangkeli

【来源】 本品为鳖蠊科昆虫地鳖*Eupolyphaga sinensis* Walker的雌虫干燥体经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒。

【制法】 取土鳖虫（地鳖）饮片3500g，加水煎煮，滤过，滤液浓缩成清膏（干浸膏出膏率为14.5%~22.0%），加入辅料适量，干燥（或干燥，粉碎），再加入辅料适量，混匀，制粒，制成1000g，即得。

【性状】 本品为浅灰黄色至黄褐色的颗粒；气微腥，味微咸。

【鉴别】 （1）取本品适量，研细，取1g，加甲醇20ml，超声处理30分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇1ml使溶解，作为供试品溶液。另取土鳖虫（地鳖）对照药材3g，加水50ml，煎煮30分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇20ml，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（中国药典2020年版通则0502）试验。吸取供试品溶液1 μ l、对照药材溶液2 μ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以正丁醇-乙醇-冰醋酸-水（4：1：1：0.2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以0.5%茚三酮乙醇溶液，在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

（2）取本品适量，研细，取0.2g，加1%碳酸氢铵溶液100ml，超声处理15分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液1ml，置进样瓶中，加胰蛋白酶溶液50 μ l（取序列分析用胰蛋白酶，加1%碳酸氢铵溶液制成每1ml中含1mg的溶液，临用时配制），摇匀，37℃恒温酶解12小时，作为供试品溶液。另取土鳖虫（地鳖）对照药材0.1g，加1%碳酸氢铵溶液100ml，加热回流30分钟，放冷，自“用微孔滤膜滤过”起，同法制成对照药材溶液。照高效液相色谱-质谱法（中国药典2020年版通则0512和通则0431）试验，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为100mm，内径为2.1mm，粒径为1.7 μ m或1.8 μ m）；以乙腈为流动相A，以0.1%甲酸溶液为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟0.3ml；柱温为30℃。采用质谱检测器，电喷雾离子化（ESI）正离子模式下多反应监测（MRM），选择质荷比（ m/z ）415.72（双电荷） \rightarrow 406.72和 m/z 415.72（双电荷） \rightarrow 667.34作为检测离子对。取土鳖虫（地鳖）对照药材溶液，进样1 μ l，按上述检测离子对测定的MRM色谱峰的信噪比均应大于3：1。

时间（分钟）	流动相A（%）	流动相B（%）
0~3	3 \rightarrow 5	97 \rightarrow 95

3~15	5→18	95→82
15~16	18→80	82→20
16~19	80	20

吸取供试品溶液1 μ l，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定。以质荷比（m/z）415.72（双电荷） \rightarrow 406.72和m/z 415.72（双电荷） \rightarrow 667.34离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与对照药材色谱保留时间一致的色谱峰。

【特征图谱】 照高效液相色谱法（中国药典2020年版通则0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 同[含量测定]项。

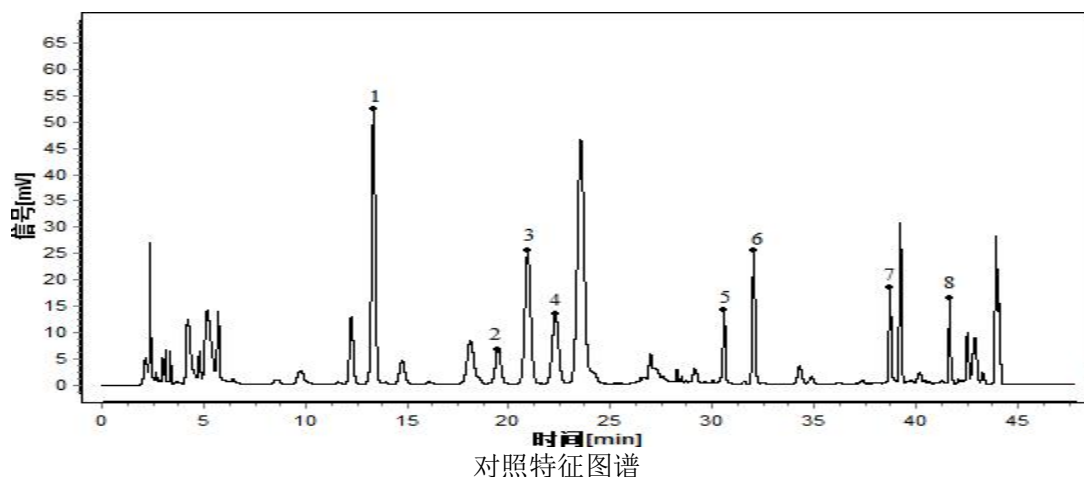
参照物溶液的制备 取土鳖虫（地鳖）对照药材0.1g，置氨基酸水解管中，加6mol/L盐酸溶液10ml，密塞，150℃水解3小时，放冷，摇匀，滤过，量取滤液5ml，置蒸发皿中，蒸干，残渣用0.1mol/L盐酸溶液使溶解，并转移至25ml量瓶中，用0.1mol/L盐酸溶液稀释至刻度，摇匀，作为对照药材参照物溶液。另取[含量测定]项下的对照品溶液，作为对照品参照物溶液。再取甘氨酸对照品、苏氨酸对照品、酪氨酸对照品、缬氨酸对照品、L-异亮氨酸对照品适量，加0.1mol/L盐酸溶液制成每1ml各含50 μ g的混合溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备 同[含量测定]项。

取上述参照物溶液与供试品溶液各5ml，分别置25ml量瓶中，各加0.1mol/L异硫氰酸苯酯（PITC）的乙腈溶液2.5ml和1mol/L三乙胺的乙腈溶液2.5ml，摇匀，室温放置1小时后，用50%乙腈稀释至刻度，摇匀。取10ml，加正己烷10ml，振摇，放置10分钟，取下层溶液，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取衍生化后的参照物溶液与供试品溶液各5 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

供试品色谱中应呈现8个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的8个特征峰保留时间相对应，且应分别与相应对照品参照物峰保留时间相对应。



峰1：甘氨酸；峰2：苏氨酸；峰3：丙氨酸；峰4：脯氨酸；峰5：酪氨酸；峰6：缬氨酸；峰7：L-异亮氨酸；峰8：苯丙氨酸

参考色谱柱：Kromasil 100-5 C18，4.6mm×250mm，5μm

【检查】黄曲霉毒素 照真菌毒素测定法（中国药典2020年版通则2351）测定。

本品每1000g含黄曲霉毒素B₁不得过5μg；含黄曲霉毒素G₂、黄曲霉毒素G₁、黄曲霉毒素B₂和黄曲霉毒素B₁的总量不得过10μg。

其他 应符合颗粒剂项下有关的各项规定（中国药典2020年版通则0104）。

【浸出物】 取本品适量，研细，取约2g，精密称定，精密加入乙醇100ml，照醇溶性浸出物测定法（中国药典2020年版通则2201）项下的热浸法测定，不得少于11.0%。

【含量测定】 照高效液相色谱法（中国药典2020年版通则0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-0.1mol/L醋酸钠溶液（用醋酸调节pH值至6.5）（7：93）的混合溶液为流动相A，以乙腈-水（4：1）的混合溶液为流动相B；按下表中的规定进行梯度洗脱；柱温为30℃；检测波长为254nm。理论板数按丙氨酸峰计算应不低于4000。

时间（分钟）	流动相A（%）	流动相B（%）
0~9	100→97	0→3
9~22	97	3
22~23	97→83	3→17
23~32	83→82	17→18
32~38	82→70	18→30
38~45	70→66	30→34
45~47	66→0	34→100
47~55	0	100

对照品溶液的制备 取丙氨酸对照品、脯氨酸对照品、苯丙氨酸对照品适量，精密称定，加0.1mol/L盐酸溶液制成每1ml含丙氨酸50μg、脯氨酸50μg、苯丙氨酸25μg的混合溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约0.2g，精密称定，置氨基酸水解管中，精密加入6mol/L盐酸溶液10ml，密塞，称定重量，150℃水解3小时，放冷，再称定重量，用6mol/L盐酸溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取滤液5ml，置蒸发皿中，蒸干，残渣用0.1mol/L盐酸溶液使溶解，并转移至25ml量瓶中，用0.1mol/L盐酸溶液稀释至刻度，摇匀，即得。

精密量取上述对照品溶液与供试品溶液各5ml，分别置25ml量瓶中，各加0.1mol/L异硫氰酸苯酯（PITC）的乙腈溶液2.5ml和1mol/L三乙胺的乙腈溶液2.5ml，摇匀，室温放置1小时后，用50%乙腈稀释至刻度，摇匀。精密量取10ml，加正己烷10ml，振摇，放置10分钟，取下层溶液，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取衍生化后的对照品溶液与供试品溶液各5μl，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每1g含丙氨酸（ $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$ ）应为7.0mg~23.0mg；含脯氨酸（ $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$ ）应为5.0mg~14.0mg；含苯丙氨酸（ $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_2$ ）应为2.5mg~7.0mg。

【规格】 每1g配方颗粒相当于饮片3.5g。

【贮藏】 密封。