

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%），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 0.2g，研细，加甲醇 20ml，超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 2ml 使溶解，作为供试品溶液。另取土鳖虫（地鳖）对照药材 1g，加水 50ml，煮沸 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 2 μ l、对照药材溶液 1 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，喷以茛三酮试液，在 105 $^{\circ}$ C 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 0.2g，研细，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 $^{\circ}$ C 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，加入 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）；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。采用质谱检测器，电喷雾正离子模式（ESI⁺），进行多反应监测（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。

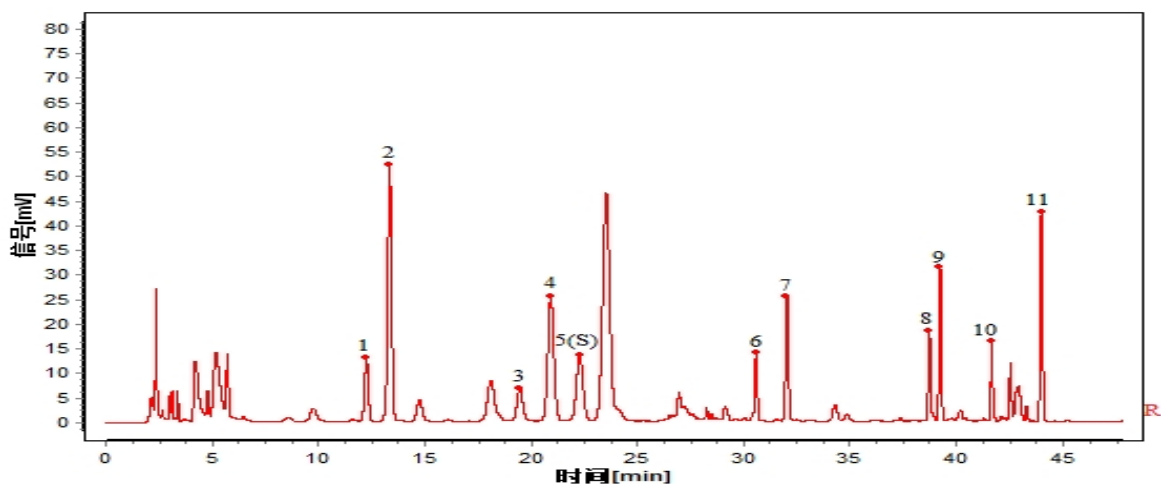
参照物溶液的制备 取土鳖虫 (地鳖) 对照药材约 0.1g, 置于具塞水解管中, 加 6mol/L 盐酸溶液 10ml, 密塞, 150 $^{\circ}$ C 水解 3 小时, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液 5ml, 蒸干, 残渣加 0.1mol/L 盐酸溶液溶解, 转移至 25ml 量瓶中, 加 0.1mol/L 盐酸溶液至刻度, 摇匀, 作为对照药材参照物溶液。另取 (含量测定) 项下的对照品溶液, 作为对照品参照物溶液。再取丝氨酸对照品、甘氨酸对照品、苏氨酸对照品、酪氨酸对照品、缬氨酸对照品、L-异亮氨酸对照品、亮氨酸对照品、L-赖氨酸对照品适量, 精密称定, 加 0.1mol/L 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。

精密量取上述参照物溶液和供试品溶液各 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, 1mol/L 三乙胺的乙腈溶液 2.5ml, 摇匀, 室温放置 1 小时后, 加 50% 乙腈至刻度, 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 11 个特征峰, 应与对照药材参照物色谱中的 11 个特征峰的保留时间相对应, 且峰 1~11 应分别与相应对照品参照物峰保留时间相对应。与脯氨酸对照品参照物峰相对应的峰为 S 峰, 计算峰 2、峰 7、峰 11 与 S 峰的相对峰面积, 其相对峰面积应在规定值的范围之内, 规定值为: 不得小于 1.11 (峰 2)、0.47 (峰 7)、0.53 (峰 11)。



对照特征图谱

峰 1: 丝氨酸; 峰 2: 甘氨酸; 峰 3: 苏氨酸; 峰 4: 丙氨酸; 峰 5 (S): 脯氨酸; 峰 6: 酪氨酸;
峰 7: 缬氨酸; 峰 8: L-异亮氨酸; 峰 9: 亮氨酸; 峰 10: 苯丙氨酸; 峰 11: L-赖氨酸

色谱柱: Kromasil 100-5 C18, 4.6mm×250mm, 5 μ m

【检查】 重金属及有害元素 照铅、镉、砷、汞、铜测定法(中国药典 2020 年版通则 2321 原子吸收分光光度法或电感耦合等离子体质谱法)测定, 铅不得过 5mg/kg; 镉不得过 1mg/kg; 砷不得过 2mg/kg; 汞不得过 0.2mg/kg; 铜不得过 20mg/kg。

真菌毒素 照真菌毒素测定法(中国药典 2020 年版通则 2351 项下多种真菌毒素测定法)测定。

本品每 1000g 含黄曲霉毒素 B₁ 不得过 5 μ g, 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 10 μ g, 含伏马毒素 B₁、伏马毒素 B₂ 的总量不得过 1mg。

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(柱长为 250mm, 内径为 4.6mm, 粒径为 5 μ m); 以乙腈-水(4:1)为流动相 A, 以 0.1mol/L 醋酸钠溶液(用醋酸调节 pH 值至 6.5)-乙腈(93:7)为流动相 B; 按下表中的规定进行梯度洗脱, 流速为每分钟 1ml; , 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 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	0→3	100→97

9~22	3	97
22~23	3→17	97→83
23~32	17→18	83→82
32~38	18→30	82→70
38~45	30→34	70→66
45~47	34→100	66→0

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 50 μ g、脯氨酸 50 μ g、苯丙氨酸 25 μ g 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，置于具塞水解管中，精密加入 6mol/L 盐酸溶液 10ml，称定重量，密塞，150 $^{\circ}$ C 水解 3 小时，放冷，再称定重量，用 6mol/L 盐酸溶液补足减失重量，摇匀，滤过，精密量取滤液 5ml 置蒸发皿中，蒸干，残渣加 0.1mol/L 盐酸溶液溶解，转移至 25ml 量瓶中，加 0.1mol/L 盐酸溶液至刻度，摇匀，即得。

精密量取上述对照品溶液和供试品溶液各 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，1mol/L 三乙胺的乙腈溶液 2.5ml，摇匀，室温放置 1 小时后，加 50% 乙腈至刻度，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对照品溶液与供试品溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每 1g 含丙氨酸 ($C_3H_7NO_2$) 应为 8.5mg~23.0mg，脯氨酸 ($C_5H_9NO_2$) 应为 5.0mg~14.0mg，苯丙氨酸 ($C_9H_{11}NO_2$) 应为 2.5mg~7.0mg。

【注意】 孕妇禁用。

【规格】 每 1g 配方颗粒相当于饮片 3.5g

【贮藏】 密封。