

国家药品监督管理局 国家药品标准

YBZ-PFKL-2024016

僵蚕配方颗粒

Jiangcan Peifangkeli

【来源】 本品为蚕蛾科昆虫家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 4~5 龄的幼虫感染（或人工接种）白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillant 而致死的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】 取僵蚕饮片 3000g，加水煎煮，滤过，滤液浓缩成清膏（干浸膏出膏率为 17%~27%），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棕色颗粒；气腥，味淡、微咸。

【鉴别】 （1）取本品 0.2g，研细，加甲醇 10ml，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。另取僵蚕对照药材 1g，加水 50ml，煮沸 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 10ml，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 5 μ l、对照药材溶液 3 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水（3：1：1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以茚三酮试液，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 1g，研细，加 70% 甲醇 20ml，超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 20ml 使溶解，用乙酸乙酯振摇提取 2 次，每次 20ml，合并乙酸乙酯液，蒸干，残渣加甲醇 2ml 使溶解，作为供试品溶液。另取僵蚕对照药材 2g，加水 30ml，煮沸 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加 70% 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 8 μ l、对照药材溶液 10 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲酸-水-甲苯（8：1：1：3）的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以三氯化铝试液，热风吹干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

(3) 取本品0.5g，研细，加1%碳酸氢铵溶液50ml，超声处理30分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液100μl，置进样瓶中，加胰蛋白酶溶液60μl（取序列分析用胰蛋白酶，加1%碳酸氢铵溶液制成每1ml含5mg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。另取僵蚕多肽 I 对照品、僵蚕多肽 II 对照品适量，精密称定，加1%碳酸氢铵溶液制成每1ml各含2μg的混合溶液，作为对照品溶液。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150mm，内径为2.1mm，粒径为1.7μm）；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）823.4（双电荷）→1070.5和m/z 823.4（双电荷）→1345.6作为僵蚕多肽 I 的检测离子对；m/z 637.3（三电荷）→825.4和m/z 637.3（三电荷）→926.4作为僵蚕多肽 II 的检测离子对。取对照品溶液，进样5μl，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	97
3~8	3→5	97→95
8~10	5	95
10~18	5→7	95→93
18~19	7→90	93→10
19~21	90	10

吸取供试品溶液 5μl，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定。以质荷比（m/z）823.4（双电荷）→1070.5 和 m/z 823.4（双电荷）→1345.6；m/z 637.3（三电荷）→825.4 和 m/z 637.3（三电荷）→926.4 离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与对照品色谱保留时间一致的色谱峰。

(4) 取本品 0.5g，研细，加 70%乙醇 10ml，超声处理 30 分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液，作为供试品溶液。另取白僵菌素对照品适量，加 70%甲醇制成每 1ml 含 0.1μg 的溶液，作为对照品溶液。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 1.7μm）；以乙腈-2mmol/L 醋酸铵溶液（75：25）为流动相，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）784.5→623.1 和 m/z 784.5→541.1 作为检测离子对。取对照品溶液，进样 1μl，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。

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）784.5 \rightarrow 623.1 和 m/z 784.5 \rightarrow 541.1 离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与对照品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 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）；以乙腈为流动相 A，以 5mmol/L 醋酸铵溶液（用醋酸调节 pH 值至 4.5）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 260nm。理论板数按腺嘌呤峰计算应不低于 5000。

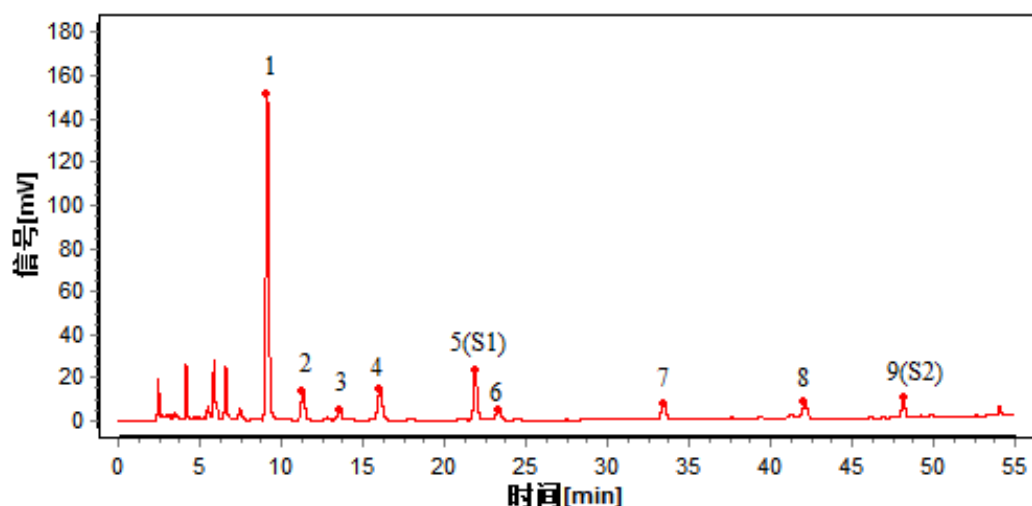
时间（分钟）	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~16	0	100
16~40	0 \rightarrow 3	100 \rightarrow 97
40~47	3 \rightarrow 6	97 \rightarrow 94
47~55	6 \rightarrow 15	94 \rightarrow 85

参照物溶液的制备 取僵蚕对照药材 1g，加水 25ml，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，置 100℃水浴中加热 5 分钟，冷却至室温，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液。另取（含量测定）腺嘌呤、腺苷项下的对照品溶液，作为对照品参照物溶液。再取鸟苷对照品适量，加 10%乙醇制成每 1ml 含 10 μ g 的溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约 0.2g，置具塞锥形瓶中，加水 25ml，超声处理（功率 250W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 10 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

供试品色谱中应呈现 9 个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的 9 个特征峰的保留时间相对应，其中峰 5、峰 7、峰 9 应分别与相应的对照品参照物峰的保留时间相对应。与腺嘌呤对照品参照物峰相对应的峰为 S1 峰，计算峰 1~6 与 S1 峰的相对保留时间；与腺苷对照品参照物峰相对应的峰为 S2 峰，计算峰 8 与 S2 峰的相对保留时间。其相对保留时间均应在规定值的 \pm 10%范围之内，规定值为：0.42（峰 1）、0.52（峰 2）、0.62（峰 3）、0.74（峰 4）、1.11（峰 6）、0.87（峰 8）。



对照特征图谱

峰 1：尿酸；峰 2：次黄嘌呤；峰 3：黄嘌呤；峰 4：尿苷；峰 5(S)：腺嘌呤；峰 7：鸟苷；峰 9：腺苷
色谱柱：Waters Xselect HSS T3，4.6mm×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 13.0%。

【含量测定】 腺嘌呤、腺苷 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 100mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.9μm）；以甲醇为流动相 A，以水为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱，流速为每分钟 0.35ml；柱温为 40℃；检测波长为 260nm。理论板数按腺苷峰计算应不低于 5000。

时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~5	0	100
5~12	0→5	100→95
12~20	5→25	95→75

对照品溶液的制备 取腺嘌呤对照品、腺苷对照品适量，精密称定，加 10%乙醇制成每 1ml 各含 10μg 的混合溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约 0.5g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 10%乙醇 25ml，称定重量，加热回流 30 分钟，放冷，再称定重量，用 10%乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 1μl，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每 1g 含腺嘌呤（C₅H₅N₅）和腺苷（C₁₀H₁₃N₅O₄）的总量应为 0.75mg~2.0mg。

1-脱氧野尻霉素 照高效液相色谱-质谱法（中国药典 2020 年版通则 0512 和通则 0431）测定。

色谱、质谱条件与系统适用性试验 以酰胺基三键合亚乙基桥杂化颗粒为填充剂（柱长为 100mm，内径为 2.1mm，粒径为 1.7μm）；以乙腈为流动相 A，以 0.3%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 0.30ml；柱温为 35℃。理论板数按 1-脱氧野尻霉素峰计算应不低于 6000。

时间（分钟）	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~10	82	18
10~15	82→60	18→40
15-22	60	40

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），监测离子对见下表：

测定成分	定量离子对 m/z	定性离子对 m/z
1-脱氧野尻霉素	164.1→128.1	164.1→146.2

对照品溶液的制备 取 1-脱氧野尻霉素对照品适量，精密称定，加 50%乙醇制成每 1ml 含 10μg 的溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品适量，研细，取约 0.1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%乙醇 100ml，称定重量，超声处理（功率 300W，频率 40kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用 50%乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 精密量取对照品溶液 0.2ml、0.4ml、1ml、2ml、4ml 和 5ml，分别置 20ml 量瓶中，加 50%乙醇稀释至刻度，制成标准曲线溶液。分别精密吸取不同浓度的标准曲线溶液与供试品溶液各 1μl，注入高效液相色谱-质谱联用仪，以对照品峰面积为纵坐标，对照品浓度为横坐标制备标准曲线。从标准曲线读出供试品溶液中相当于 1-脱氧野尻霉素的量，计算，即得。

本品每 1g 含 1-脱氧野尻霉素 ($C_6H_{13}NO_4$) 应为 0.5mg~1.6mg。

【规格】 每 1g 配方颗粒相当于饮片 3g

【贮藏】 密封。