附件6

美洲大蠊药材及饮片标准（征求意见稿）

美洲大蠊

Meizhoudalian

PERIPLANETA

【来源】 本品为蜚蠊科昆虫美洲大蠊*Periplaneta americana*（Linnaeus.）的干燥体。捕捉后，置55℃～65℃热水中淹死，漂洗，沥干后及时烘干。

【性状】 本品呈扁平长椭圆形，长2.5～3.2cm，宽1～1.4cm。前端较窄，后端略宽，背部红褐色，有光泽；四翅，翅发达，分前后翅，后翅在前翅下。前胸背板略圆，淡黄色，中部大斑赤褐色至黑褐色，其后缘中央向后延伸，其前缘有一淡黄色“T”形小斑，背板后缘与大斑同色；剥去前后翅，可见后胸背板二节；腹背板七节，黄棕色，近尾端呈红色。头小，三角状，隐藏于胸部之下，触角线状，多断落。胸部有足3对，易脱落。偶见无翅幼虫。质松脆，易碎。气腥，味微咸。

【鉴别】 （1）取本品粉末1g，加水10ml，超声处理10分钟，离心，取上清液作为供试品溶液。另取蜚蠊对照药材1g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（通则0502）试验，吸取上述两种溶液各2μl，分别点于同一硅胶G薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水（19:5:5）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）聚合酶链式反应法

模板DNA提取取本品0.5g，置乳钵中，加液氮适量，充分研磨使成粉末；取0.1g，置1.5ml离心管中，用血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒提取DNA［加入缓冲液GA 200μl和RNA酶溶液（100 mg/ml）4μl，涡旋振荡；加入溶液Proteinase K 20μl，混匀，56℃水浴保温30分钟，离心（转速为每分钟4500转）5秒；加入缓冲液GB 200μl，混匀，70℃水浴保温10分钟，离心（转速为每分钟4500转）5秒；加入无水乙醇200μl，混匀，离心（转速为每分钟4500转）5秒；吸取溶液和絮状沉淀转移入吸附柱CB3中（吸附柱放入收集管中），离心（转速为每分钟12000转）30秒，弃去过滤液；加入缓冲液GD 500μl，离心（转速为每分钟12000转）30秒，弃去过滤液；加入漂洗液PW600μl，离心（转速为每分钟12000转）30秒，弃去过滤液，再加入漂洗液PW600μl，离心（转速为每分钟12000转）30秒，弃去过滤液；再离心（转速为每分钟12000转） 2分钟，取出吸附柱，放入另一离心管中，室温放置3分钟；加入100μl洗脱缓冲液TE，室温放置2～5分钟，离心（转速为每分钟12000转）2分钟］，取洗脱液，作为供试品溶液，置零下20°C保存备用。另取蜚蠊对照药材粉末0.1g，同法制成对照药材模板DNA溶液。

PCR反应 鉴别引物：5’TGCTGAGCTCGGGCAACCAGGTTCA

C3’和5’CTACTGATCATACGAAAAGGGGAATT 3’。PCR反应体系：在200 μl离心管中进行，反应总体积为25μl，反应体系包括10×PCR缓冲液（含Mg2+）2.5μl，dNTPs（10μmol/L）1.0μl，鉴别引物（10μmol/L）各1.0μl，Taq DNA polymerase（5U/μl）0.3μl，模板DNA（50ng/μl）2.0μl，无菌双蒸水17.2μl。将离心管置PCR仪，PCR反应参数：94°C预变性5min；循环反应30次（94°C变性30s，65.5℃退火30s，72°C延伸45s），72°C延伸5分钟。另取无菌超纯水，同法上述反应操作，作为空白对照。

电泳检测 照琼脂糖凝胶电泳法（通则0541），胶浓度为1.5%，胶中加入核酸染料Gelview；供试品与对照药材PCR反应溶液的上样量分别为5μl，DNA分子量标记上样量为2μl（0.5μg/μl）。电泳结束后，取凝胶片在凝胶成像仪上或紫外透射仪上检视。供试品凝胶电泳图谱中，在与对照药材凝胶电泳图谱相应的位置上应具相同的DNA条带，且在400～500bp应有一条DNA条带。空白对照无条带。

【检查】 杂质 不得过2.0%（通则2301）。

水分 不得过9.0%（通则0832第二法）。

总灰分 不得过8.0%（通则2302）。

酸不溶性灰分 不得过2.0%（通则2302）。

重金属及有害元素 照铅、镉、砷、汞、铜测定法（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1mg/kg，镉不得过0.3mg/kg，砷不得过1mg/kg，汞不得过0.2mg/kg，铜不得过20mg/kg。

有机氯农药残留量照农药残留量测定法（通则2341有机氯类农药残留量测定法第一法）测定。含总六六六（α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC之和）不得过0.2mg/kg；总滴滴涕（pp′-DDE、pp′-DDD、op′-DDT、pp′-DDT之和）不得过0.2mg/kg；五氯硝基苯不得过0.1mg/kg。

【浸出物】 照醇溶性浸出物测定法（通则2201）项下的冷浸法测定，用乙醇作溶剂，不得少于8.0%。

【含量测定】 总氨基酸 对照品溶液的制备 取丙氨酸对照品适量，精密称定，加水制成每1ml含50μg的溶液，即得。

标准曲线的制备 精密量取对照品溶液0.0ml、0.2ml、0.4 ml、0.6 ml、0.8 ml、1.0ml，分别置10ml具塞试管中，加水至1.0ml，加0.2mol/L枸橼酸缓冲液（pH5.0）1.0ml，1%抗坏血酸溶液0.1ml，1%茚三酮乙二醇甲醚溶液3.0ml，摇匀，置沸水浴中加热15分钟，取出，放冷，再加80%乙醇溶液3.0ml，摇匀，照紫外-可见分光光度法（通则0401），在570nm波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

供试品溶液的制备 取本品粉末约1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入50%乙醇溶液50ml，称定重量，超声处理（功率500W，频率40kHz）60分钟，放冷，再称定重量，用50%乙醇溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液1ml，置50ml量瓶中，加水至刻度，摇匀，即得。

测定法 精密量取供试品溶液1ml，照标准曲线制备项下的方法，自“加0.2mol/L枸橼酸缓冲液（pH5.0）1.0ml”起，依法测定吸光度，计算，即得。

本品按干燥品计算，含总氨基酸以丙氨酸（C3H7NO2）计，不得少于0.45%。

尿嘧啶、次黄嘌呤和黄嘌呤 照高效液相色谱法（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；以甲醇-0.01mol/L磷酸二氢钾溶液（1:99）为流动相；检测波长为260nm。理论板数按黄嘌呤峰计算应不低于5000。

对照品溶液的制备 精密称取尿嘧啶对照品、次黄嘌呤对照品适量，加水分别制成每1ml含尿嘧啶、次黄嘌呤各0.2mg的溶液；精密称取黄嘌呤对照品适量，先加1～2ml水，再加适量磷酸使其完全溶解，加水制成每1ml含黄嘌呤60μg的溶液；分别精密量取上述三种对照品溶液各1ml，置同一10ml量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即得。

供试品溶液的制备 取本品粉末约1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入水50ml，称定重量，超声处理（功率200W，频率40kHz）60分钟，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，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10μl，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品按干燥品计算，含尿嘧啶（C4H4N2O2）、次黄嘌呤（C5H4N4O）和黄嘌呤（C5H4N4O2）的总量不得少于0.070%。

饮片

【炮制】 美洲大蠊粉 取美洲大蠊药材，除去杂质，粉碎成细粉。

【性状】 本品为棕色至棕褐色粉末。气腥，味微咸。

【鉴别】【**检查**】 **水分、总灰分**、**酸不溶性灰分**同药材。

**黄曲霉毒素** 照黄曲霉毒素测定法（通则2351第一法）测定。

本品每1000g含黄曲霉毒素B1不得过5μg，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。

**微生物限度** 照非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法（通则1105）和控制菌检法（通则1106）及非无菌药品微生物限度标准（通则1107）检查。需氧菌总数不得过103cfu/g；霉菌和酵母菌总数不得过102cfu/g；耐胆盐革兰阴性菌应小于104cfu（1 g）；不得检出沙门菌（10g）。

【**浸出物**】【**含量测定】**同药材。

【性味与归经】 咸，平；归肝、肾、脾经。

【功能与主治】 活血化瘀，清热解毒，消肿生肌，消积。用于癥瘕积聚，小儿疳积，咽喉肿痛，疮痈肿痛及痔疮出血，口腔溃疡，胃、十二指肠溃疡。外治水火烫伤，皮肤溃疡。

【用法与用量】 5～10g；美洲大蠊粉吞服一次3g。外用适量。

【有效期】饮片：24个月。

【贮藏】 药材：置通风干燥处，防霉，防蛀。饮片：密封，置阴凉干燥处。

注：0.2mol/L枸橼酸缓冲液（pH5.0）的配制 取枸橼酸21.01g，加水200ml使溶解，加1mol/L氢氧化钠溶液200ml，加水至500ml，摇匀，即得。