

公示稿

羌活鱼

Qianghuoyu

BATRACHUPERI

本品系藏族习用药材。为小鲵科山溪鲵属动物西藏山溪鲵 *Batrachuperus tibetanus* Schmidt 或山溪鲵 *Batrachuperus pinchonii*(David)的干燥全体。春、秋捕捉，用酒闷死，去内脏，烘干或置通风处风干，备用。

【性状】 本品呈扁圆柱状，皱缩弯曲，完整者长 13~25cm。头部宽扁，吻端圆阔，口大；脊背可见明显的脊椎骨棱；四肢较短，指、趾均为 4，端部有爪状深褐色角质层，掌、跖部无角质鞘或具深褐色角质鞘；尾部侧扁，体色背部呈棕褐色或黑褐色，腹部呈黄棕色。气腥。

【鉴别】 (1)本品粉末灰棕色至棕褐色。横纹肌碎片长条形，类圆形，侧面观有平直的细密横纹；表皮碎片中可见黑色或棕色的色素颗粒；骨碎片呈不规则碎块状，表面有裂缝状突起。

(2) 取本品粉末 2g，加 70%乙醇 10ml，超声处理 30 分钟，滤过，滤液作为供试品溶液。另取羌活鱼对照药材 2g，同法制成对照药材溶液。再取亮氨酸对照品、丙氨酸对照品、甘氨酸对照品和缬氨酸对照品，加 70%乙醇分别制成每 1ml 各含 1mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典 2015 年版通则 0502）试验，吸取对照品溶液各 2 μ l，对照药材溶液和供试品溶液各 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水(4: 1: 1)为展开剂，展开两次，取出，晾干，喷以茚三酮试液，在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

(3) 聚合酶链式反应法

模板 DNA 的提取 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，加入消化液 780 μ l[细胞核裂解液 700 μ l，10%十二烷基磺酸钠溶液 50 μ l，蛋白酶 K 25 μ l，RNA 酶溶液(25mg/ml)5 μ l]，在 55 $^{\circ}$ C 水浴保温 1 小时，每 20 分钟混匀一次，然后 55 $^{\circ}$ C 水浴放置过夜。离心（转速为每分钟 10000 转）5 分钟，将上清液移至另一个无菌离心管，加入 Tris 平衡酚 300 μ l 和三氯甲烷 300 μ l，混匀，静置分层，将上层溶液移至 DNA 纯化柱中，加入两倍体积的无水乙醇，混匀，离心（转速为每分钟 10000 转）1 分钟，弃去过滤液，加入洗脱液 800 μ l[5mol/L 醋酸钾溶液 26 μ l，1mol/L Tris-盐酸溶液 (pH7.5) 18 μ l，0.5mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液 (pH8.0) 3 μ l，无水乙醇 480 μ l，灭菌双蒸水 273 μ l]，离心（转速为每分钟 10000 转）1 分钟，弃去过滤液，用上述洗脱液反复洗脱 2 次，每次离心（转速为每分钟 10000 转）1 分钟；弃去过滤液，再离心 2 分钟，将 DNA 纯化柱转移入另一离心管中，加入 TE 缓冲液[含 10mmol/L Tris-盐酸

(pH8.0)和 1mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液(pH8.0) 150μl, 70℃放置 3 分钟后, 离心(转速为每分钟 10000 转) 1 分钟, 再加入 TE 缓冲液 100μl, 70℃放置 3 分钟后, 离心(转速为每分钟 10000 转) 1 分钟, 上清液作为供试品溶液, 置零下 20℃保存备用。另取羌活鱼对照药材 0.1g, 同法制成对照药材模板 DNA 溶液。

PCR 反应 鉴别引物: 5'AGATATAGCATTCCCACGAATA3'和 5'TGTTAAAAGCATTGTAATTCCTG CA3'。PCR 反应体系: 在 200μl 离心管中进行, 反应总体积为 25μl, 反应体系包括 2×PCR 预混液 12.5μl, 鉴别引物(10μmol/L)各 1μl, 2.5ng/μl 模板 DNA0.5μl, 超纯水补足 25μl。将离心管置 PCR 仪, PCR 反应参数: 95℃预变性 5 分钟, 循环反应 25 次(95℃30 秒, 54℃30 秒, 72℃30 秒), 最后延伸(72℃) 7 分钟。

电泳检测 照琼脂糖凝胶电泳法(中国药典 2015 年版通则 0541), 胶浓度为 2%, 胶中加入核酸凝胶染色剂 Goldview; 供试品溶液与对照药材 PCR 反应溶液的上样量分别为 5μl, DNA 分子量标记上样量为 3.5μl (20ng/μl)。电泳结束后, 取凝胶片在凝胶成像仪上检视。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, 在 250~500bp 应有单一 DNA 条带。

【检查】 水分 不得过 10.0% (中国药典 2015 年版通则 0832 第二法)。

总灰分 不得过 30.0% (中国药典 2015 年版通则 2302)。

【浸出物】 照醇溶性浸出物测定法(中国药典 2015 年版通则 2201)项下的热浸法测定, 用稀乙醇作溶剂, 不得少于 12.0%。

【炮制】 除去内脏, 洗净, 烘干或风干。

【性味】 辛、咸, 平。

【功能与主治】 续断接骨, 行气止痛, 滋补强身。用于跌打损伤, 骨折, 肝胃气痛, 血虚脾弱及肾寒阳痿等症。

【用法与用量】 1~2g。

【贮藏】 置阴凉干燥处, 防蛀。

起草单位: 青海省药品检验检测院

复核单位: 河南省食品药品检验所