

温度、光照及 pH 对蟾酥提取液中指标成分稳定性的影响

李国雁¹, 陈灵², 肖丹³, 彭衡阳³, 王森^{1*}

(1. 遵义医学院药学院, 贵州遵义 563006; 2. 遵义医学院附属医院, 贵州遵义 563099;
3. 通威股份有限公司动物保健研究所, 成都 610041)

[摘要] 目的: 考察温度、光照及 pH 对蟾酥提取液中蟾酥毒基、脂蟾毒配基、总蟾毒色胺稳定性的影响。方法: 采用 HPLC 测定蟾酥提取液中蟾酥毒基和脂蟾毒配基的含量, 检测波长 296 nm, 流动相乙腈-水 (58:42); 利用 UV 测定蟾酥提取液中总蟾毒色胺的含量, 检测波长 559 nm。分别考察高温 (60, 40 °C), 强光照射 [(4 500 ± 500) Lx] 及不同 pH (40 °C, pH 分别为 4.32, 4.99, 5.73, 6.47, 6.97, 7.75) 条件下蟾酥提取液放置 0, 5, 10 d 后蟾酥毒基、脂蟾毒配基、总蟾毒色胺的含量变化。结果: 60 °C 条件下放置 10 d 后 3 种指标成分降解率均 > 5%; 40 °C 及 (4 500 ± 500) Lx 条件下蟾酥毒基和脂蟾毒配基的降解率均 < 5%; 总蟾毒色胺在上述条件下的降解率均 > 5%。蟾酥毒基、脂蟾毒配基、总蟾毒色胺分别在 pH 5.73, 6.47, 6.47 时降解最慢。结论: 蟾酥提取液中蟾酥毒基和脂蟾毒配基受高温及强光照射的影响较小, 总蟾毒色胺受高温及强光照射的影响较大; pH 是影响蟾酥提取液中 3 种指标成分稳定性的主要因素, 不同 pH 条件对 3 种指标成分的稳定性的影响。

[关键词] 蟾酥; 蟾酥毒基; 脂蟾毒配基; 总蟾毒色胺; 高温; 光照; pH; 稳定性

[中图分类号] R22; R283.6; R945; R284; R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)05-0031-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050031

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171102.1852.030.html>

[网络出版时间] 2017-11-02 18:52

Effect of Temperature, Light and pH on Stability of Index Components in Extract of Bufonis Venenum

LI Guo-yan¹, CHEN Ling², XIAO Dan³, PENG Heng-yang³, WANG Sen^{1*}

(1. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563006, China;

2. Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China;

3. Animal Health Research Institute, Tongwei Co. Ltd., Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of temperature, light and pH on stability of cinobufagin, resibufogenin and total bufotenine in Bufonis Venenum extract. **Method:** The contents of cinobufagin and resibufogenin were determined by HPLC, the detection wavelength was 296 nm and the mobile phase was acetonitrile-water (58:42). The content of total bufotenine was determined by UV, the detection wavelength was set at 559 nm. The effect of high temperature (60, 40 °C), strong light irradiation [(4 500 ± 500) Lx] and different pH (40 °C, pH of 4.32, 4.99, 5.73, 6.47, 6.97, 7.75) on stability of cinobufagin, resibufogenin and total bufotenine in Bufonis Venenum extract placed 0, 5, 10 d was investigated. **Result:** The degradation of the three indicators was greater than 5% under 60 °C for 10 d. The degradations of cinobufagin and resibufogenin were both < 5% under the conditions of 40 °C and (4 500 ± 500) Lx, the degradation of total bufotenine was > 5% under the above conditions. Degradation of cinobufagin at pH 5.73 was the slowest, degradation of

[收稿日期] 20170715(004)

[基金项目] 贵州省药理学研究生卓越人才培养计划项目(黔教研合 ZYRC 字[2014]019)

[第一作者] 李国雁, 在读硕士, 从事药物新剂型新制剂研究, E-mail: 863510715@qq.com

[通信作者] * 王森, 博士, 副教授, 从事中药外用制剂研究, Tel: 0851-28642515, E-mail: wangsen912912@126.com

resibufogenin was the slowest at about pH 6.47, and degradation of total bufotenine at pH 6.47 was the slowest.

Conclusion: High temperature and strong light irradiation have small effect on cinobufagin and resibufogenin in Bufonis Venenum extract, but total bufotenine is affected by high temperature and strong light irradiation. The pH is the main factor affecting the stability of three index components in Bufonis Venenum extract, but different pH conditions have different effects on the stability of these three index components.

[**Key words**] Bufonis Venenum; cinobufagin; resibufogenin; total bufotenine; high temperature; light; pH; stability

蟾酥的化学成分复杂,主要活性成分有蟾毒配基类(如脂蟾毒配基、华蟾酥毒基和蟾毒灵等),蟾蜍毒素类(如蟾毒配基脂肪酸酯和蟾毒配基硫酸酯等)以及吡啶类生物碱(如 5-羟色胺和蟾蜍色胺等)^[1-4]。蟾酥具有强心、抗肿瘤、增强免疫、提高疫苗保护率、镇痛等药理作用^[5-9],临床运用广泛且疗效显著^[10-11]。蟾酥现有制剂有蟾酥注射液、复方蟾酥注射液等,这些制剂在实际操作中需多次给药才能达到治疗目的,多次注射给药会加重靶动物的应激反应且顺应性差,有必要开发一种使用方便、作用持久的新型蟾酥穴位植入剂。

药效成分的稳定性影响了药物的有效性和安全性,是成药性评价和制剂设计、生产、贮运^[12]和临床运用的重要依据,是保证药物质量及疗效的关键,可为处方工艺的筛选提供依据,进一步验证处方的合理性及可行性^[13],是新药研发的重要研究内容之一。有研究对蟾酥中蟾毒配基类成分华蟾酥毒基和脂蟾毒配基进行高温、强光照射及 pH 稳定性考察,结果表明华蟾酥毒基和脂蟾毒配基在高温、强光照射及弱酸条件下较稳定^[14-15]。但关于蟾酥中总蟾毒色胺在高温、强光照射及不同 pH 条件下的稳定性研究尚未见报道。鉴于此,本实验通过乙醇回流提取、减压浓缩得到用于制备蟾酥穴位植入剂且含华蟾酥毒基、脂蟾毒配基、总蟾毒色胺类成分的蟾酥提取液,同时考察该提取液中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基和总蟾毒色胺在高温、强光及不同 pH 条件下的稳定性,进一步完善对蟾酥有效成分稳定性影响因素的考察,为蟾酥穴位植入剂及其他相关制剂的研发提供实验依据。

1 材料

1260 型液相色谱仪(美国 Agilent 公司),T9 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),ME204E 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),101 型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司),Dura 12 型超纯水机[泽拉布仪器科技(上海)有限公司],YB-3 型澄明度检测仪

(天津市天大天发科技有限公司),Eutech pH700 型酸度计(赛默飞世尔科技公司)。

华蟾酥毒基、脂蟾毒配基和 5-羟色胺盐酸盐对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110803-201406,110718-201108,111656-200401,纯度分别为 99.6%,98.9%,100%),蟾酥(江苏海门市康泉蟾衣科技有限公司,批号 20161112-1,经遵义医学院药学院杨建文教授鉴定为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* 的干燥分泌物),对二甲氨基苯甲醛(天津市大茂化学试剂厂),水为超纯水,乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 蟾酥提取液的制备 取蟾酥适量,粉碎成粗粉,加 20 倍量 50% 乙醇回流提取 2 次,每次 30 min,提取液减压回收乙醇,得生药质量浓度 25 g·L⁻¹ 蟾酥提取液。

2.2 华蟾酥毒基和脂蟾毒配基的含量测定

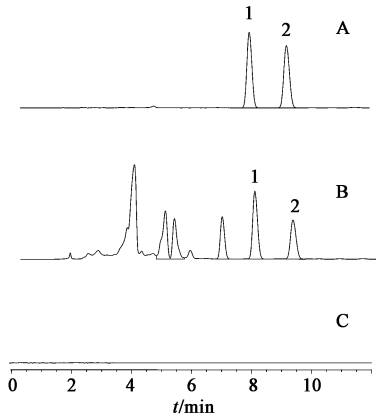
2.2.1 色谱条件 采用 Ultimate® LP-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(58:42),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 40 °C,检测波长设定 296 nm,进样量 20 μL。

2.2.2 对照品溶液制备 分别精密称取华蟾酥毒基和脂蟾毒配基对照品 10.16 mg 和 10.59 mg,置于 10 mL 量瓶中,分别加甲醇溶解并稀释至刻度,得质量浓度分别为 1.012,1.047 g·L⁻¹ 的对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液适量,加甲醇定容至 25 mL,得华蟾酥毒基和脂蟾毒配基质量浓度均为 0.126 g·L⁻¹ 的混合对照品储备液。精密吸取该混合对照品储备液适量,加甲醇定容至 10 mL,得二者质量浓度均为 0.05 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取 2.1 项下蟾酥提取液适量,加甲醇稀释 10 倍,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 专属性考察 分别精密量取混合对照品溶液、供试品溶液、甲醇适量,按 2.2.1 项下色谱条件测定,记录色谱图,见图 1。结果表明华蟾酥毒基与

脂蟾毒配基在此色谱条件下互不干扰,供试品溶液中主要色谱峰保留时间与混合对照品溶液一致,表明本法具有较好的专属性。



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 甲醇; 1. 华蟾酥毒基; 2. 脂蟾毒配基

图1 蟾酥提取液的HPLC

Fig. 1 HPLC of Bufonis Venenum extract

2.2.5 线性关系考察 分别吸取2.2.2项下混合对照品储备液0.4, 4, 6, 8, 10 mL, 加甲醇定容至10 mL, 制成系列质量浓度的混合对照品溶液, 按2.2.1项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的标准曲线方程分别为 $Y = 14.557X - 45.692$ ($r = 0.9997$), $Y = 14.464X - 41.029$ ($r = 0.9997$), 线性范围均为0.005 ~ 0.126 $g \cdot L^{-1}$ 。

2.2.6 重复性试验 取同一批蟾酥6份, 按2.2.1和2.2.3项下方法平行制备供试品溶液, 按2.2.1项下色谱条件测定, 结果华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的质量浓度平均值分别为0.82, 0.575 $g \cdot L^{-1}$, RSD分别为1.8%和1.6%, 表明该方法重复性良好。

2.2.7 精密度试验 取同一供试品溶液6份, 按2.2.1项下色谱条件测定, 分别于1, 2, 3 d测定, 结果华蟾酥毒基和脂蟾毒配基日内精密度的RSD均为0.7%, 日间精密度的RSD分别为1.4%和1.5%, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密量取已知2个指标成分含量的蟾酥提取液9份, 分别精密加入混合对照品储备液适量, 配制成高、中、低质量浓度的供试品溶液, 按2.2.1项下色谱条件测定, 结果华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的加样回收率平均值分别为99.45%和99.55%, RSD分别为1.0%和1.5%, 表明本法准确度良好。

2.2.9 耐用性考察 精密量取混合对照品溶液及供试品溶液适量, 分别考察不同流动相比比例

(55.1:44.9, 58:42, 60.9:39.1), 不同色谱柱(Ultimate® LP-C₁₈, Synergi 4u Hydro-RP 80A), 不同柱温(30, 40, 42 °C), 不同流速(0.8, 1, 1.2 $mL \cdot min^{-1}$), 不同检测波长(294, 296, 301 nm)对指标成分含量测定的影响, 结果华蟾酥毒基峰面积的RSD分别为0.8%, 0.5%, 1.5%, 0.7%和0.1%, 脂蟾毒配基峰面积的RSD分别为0.2%, 0.6%, 1.4%, 0.1%和1.6%, 表明本法耐用性良好。

2.2.10 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于制备后0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h按2.2.1项下色谱条件测定, 结果华蟾酥毒基和脂蟾毒配基峰面积的RSD分别为0.6%, 1.6%, 表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定。

2.3 总蟾毒色胺的含量测定

2.3.1 对照品溶液制备 精密称取5-羟色胺盐酸盐对照品适量, 加水溶解, 得0.41 $g \cdot L^{-1}$ 对照品储备液, 加水稀释, 得0.041 $g \cdot L^{-1}$ 对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液制备 取2.1项下蟾酥提取液适量, 加水稀释100倍, 过滤, 即得。

2.3.3 显色剂及空白溶液制备 精密称取对二甲氨基苯甲醛约13.5 g, 加盐酸(60→90 mL)溶解, 摇匀, 得15%对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液。精密吸取该溶液适量置于量瓶中, 加等量水稀释, 即得空白溶液。

2.3.4 检测波长的确定 取5-羟色胺盐酸盐对照品溶液、供试品溶液、空白溶液适量, 分别加入等体积15%对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液, 显色30 min后, 在400~700 nm内扫描。结果对照品溶液和供试品溶液均在559 nm处有最大吸收, 而空白溶液在此处则无吸收。

2.3.5 显色稳定性试验 取5-羟色胺盐酸盐对照品溶液、供试品溶液, 加入等量显色剂, 在90 min内于559 nm处扫描, 结果显色20 min后其吸光度A达最大值, 50 min后A逐渐下降, 故显色20~50 min测定较为适宜。

2.3.6 线性关系考察 精密吸取5-羟色胺盐酸盐对照品储备液1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置10 mL量瓶中, 各加水至5.0 mL, 加入15%对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液5.0 mL, 显色30 min后立即于559 nm处测定, 以质量浓度(C)对A进行线性回归, 得标准曲线方程 $A = 14.557C - 45.692$ ($r = 0.9997$), 线性范围0.041~0.021 $g \cdot L^{-1}$ 。

2.3.7 重复性试验 取同一批蟾酥6份, 按2.1和

2.3.2 项下方法制备供试品溶液,加入等体积 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液,于 559 nm 处测定 A, 计算总蟾毒色胺质量浓度的平均值 $1.069 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, RSD 0.8%, 表明该方法重复性良好。

2.3.8 精密度试验 取同一供试品溶液 6 份,加入等体积 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液,分别于 1, 2, 3 d 在 559 nm 处测定 A, 结果总蟾毒色胺的日间精密度 RSD 0.7%, 日内精密度 RSD 0.9%。

2.3.9 加样回收率试验 精密量取已知指标成分含量的蟾酥提取液 9 份,分别精密加入 5-羟色胺盐酸盐对照品溶,配制成高、中、低质量浓度的供试品溶液,于 559 nm 测定 A, 结果总蟾毒色胺的平均加样回收率 100.14%, RSD 0.1%。

2.4 蟾酥提取液的含量测定 分别取 **2.2.3** 和 **2.3.2** 项下供试品溶液,分别按 **2.2** 和 **2.3** 项下方法测定,结果蟾酥提取液中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基和总蟾毒色胺的质量浓度分别为 0.95, 0.539, $1.078 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 稳定性考察

2.5.1 高温试验 取蟾酥提取液 10 mL,灌封于无色透明安瓿瓶内,分别于 25, 40, 60 °C 下放置,分别于第 5, 10 天取样,观察外观性状并检测提取液中的华蟾酥毒基、脂蟾毒配基和总蟾毒色胺的含量,按降解率 $= (m_0 - m_i) / m_0 \times 100\%$ 计算降解率,式中 m_0 为第 0 天指标成分的质量, m_i 为第 i 天指标成分的质量, $i = 5, 10$ 。见表 1。结果发现高温条件下蟾酥提取液外观变化明显;华蟾酥毒基、脂蟾毒配基在 60 °C 下放置 10 d 的降解率均 $> 5\%$, 降解明显,而 25, 40 °C 时的降解率则均 $< 5\%$, 无明显变化;总蟾毒色胺在 3 个温度下放置 10 d 的降解均明显。

表 1 蟾酥提取液的高温稳定性试验

Table 1 High temperature stability test of Bufonis Venenum extract

T/°C	t/d	外观性状	降解率/%		
			华蟾酥毒基	脂蟾毒配基	总蟾毒色胺
-	0	乳黄色浑浊液体	0	0	0
60	5	棕黑色浑浊液体	5.65	3.57	32.29
	10	黑色浑浊液体	21.68	21.14	35.93
40	5	棕黑色浑浊液体	2.31	1.85	6.75
	10	棕黑色浑浊液体	4.79	2.56	9.15
25	5	乳黄色浑浊液体	2.83	2.36	2.36
	10	乳黄色浑浊液体	3.90	2.58	10.57

2.5.2 光照试验 取蟾酥提取液 10 mL,灌封于无

色透明安瓿瓶内,置 $(4\ 500 \pm 500)$ Lx 条件下放置 10 d,于第 5, 10 天取样,观察外观性状并检测提取液中指标成分的含量,计算降解率,见表 2。结果发现强光条件下提取物外观无明显变化,均为乳黄色浑浊液体,华蟾酥毒基及脂蟾毒配基的降解率均 $< 5\%$, 无明显变化,总蟾毒色胺的降解率均 $> 5\%$, 降解明显。

表 2 蟾酥提取液在强光照条件下的降解率

Table 2 Light stability test of Bufonis Venenum extract %

t/d	华蟾酥毒基	脂蟾毒配基	总蟾毒色胺
0	0	0	0
5	3.89	1.13	12.18
10	4.65	3.38	22.75

2.5.3 pH 稳定性 取蟾酥提取液与不同 pH(4.0, 5.0, 5.8, 6.5, 7.0, 7.8) 磷酸盐缓冲液以 1:8 比例混合,得不同 pH 的蟾酥稀释液,测得 pH 分别为 4.32, 4.99, 5.73, 6.47, 6.97, 7.75。取蟾酥稀释液 10 mL,灌封于无色透明安瓿瓶内,于 40 °C 放置 10 d,于第 5, 10 天取样,测定稀释液中指标成分的含量,计算降解率,见表 3。结果发现蟾酥提取液中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基、总蟾毒色胺分别在 pH 5.73, 6.47, 6.47 时降解最慢。

表 3 蟾酥提取液在不同 pH 条件下的降解率

Table 3 pH stability test of Bufonis Venenum extract %

pH	华蟾酥毒基		脂蟾毒配基		总蟾毒色胺	
	5 d	10 d	5 d	10 d	5 d	10 d
4.32	22.26	32.60	79.90	100.00	20.20	51.50
4.99	35.60	38.70	40.50	41.20	37.00	45.50
5.73	16.20	24.80	46.90	59.00	15.80	47.90
6.47	48.10	71.60	15.50	18.10	27.70	44.00
6.97	88.00	93.20	26.60	27.00	28.80	52.60
7.75	100.00	100.00	30.60	30.00	36.50	59.30

3 讨论

本文采用稳定性影响因素试验考察蟾酥提取液在高温、强光照射及不同 pH 条件下华蟾酥毒基、脂蟾毒配基及总蟾毒色胺的降解规律,其中高温及强光照射下华蟾酥毒基和脂蟾毒配基较稳定,这与文献[14-15]的报道一致,而总蟾毒色胺在高温及强光照射下降解较快;华蟾酥毒基在 pH 5.73 下降解较慢,脂蟾毒配基在 pH 6.47 下降解较慢,这与文献[14-15]的报道一致,总蟾毒色胺受酸碱影响较大。说明高温、光照及不同 pH 条件对蟾酥提取液中不

同类别成分稳定性有不同的影响规律,究其原因可能与蟾酥中各成分化学结构的特殊性有关,总蟾毒色胺为水溶性成分,其结构中含有吡啶母核及烷胺侧链^[16-17],对温度、光照及酸碱的催化较为敏感;华蟾酥毒基和脂蟾毒配基为脂溶性成分,其结构中 C-17 位含有 α -吡喃酮,在受酸、碱的催化下可转变为稳定的反式邻羟基桂皮酸盐^[18],而且脂蟾毒配基结构中还含有环氧烷的结构^[19],易发生水解反应,正是这些结构特异性决定了蟾毒配基类成分容易受 pH 的影响而降解。因此,在后续蟾酥穴位植入剂的处方设计中,为避免蟾酥制剂有效成分的降解,应注意避光、低温保存,并严格控制制剂的 pH,以保证其在各成分的稳定范围内。

采用 HPLC 测定时,华蟾酥毒基峰前有一个分离度好且峰面积较大的色谱峰,依照 HPLC 色谱行为及文献[20],此色谱峰所对应的成分可能为蟾毒灵,具体的变化情况有待进一步分析。鉴于蟾酥提取液所含成分复杂,其稳定性影响因素和影响规律也极其复杂,后续将考察蟾酥提取液中整体成分的稳定性规律,温度、酸碱等不同因素对成分降解的相互作用以及共存成分稳定性的相互影响等。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:383-384.
[2] 王子月,王洪兰,周婧,等. 利用 UPLC-TQ-MS 比较蟾酥鲜品和蟾酥商品化学成分[J]. 中国中药杂志, 2015,40(20):3967-3973.
[3] 赵彦敏,左其艳,李振麟,等. 蟾酥的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(6):65-69.
[4] 王叶. 蟾酥中强心苷类化学成分的研究[D]. 长春:吉林大学,2015.
[5] 梁正敏,何家康,安宝聚,等. 蟾酥水提取物对小鼠免疫功的影响[J]. 粮食与饲料工业,2017,12(1):43-47.
[6] 辛秀兰,张宝璟,苏东海,等. 中药蟾酥的药理作用研究进展[J]. 现代生物医学进展,2012,12(3):

588-590.
[7] 闫兵,董艳,丛军兹. 蟾酥对伤寒杆菌体外抑菌作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):242-243.
[8] 于洋,唐雨顺,张玉科,等. 蟾酥注射液对马立克氏病疫苗的保护作用[J]. 中国农学通报,2011,27(17):38-44.
[9] 张素娟,张永太,申利娜,等. 蟾酥提取工艺优化与提取物体外抗肿瘤活性研究[J]. 上海中医药杂志, 2013,47(5):93-97.
[10] 李光勇,张娟娟,顾雪竹,等. 蟾蜍皮的临床应用概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(14):235-238.
[11] 张慧卿,殷子斐,盛佳钰,等. 蟾酥的临床应用与研究现状[J]. 临床军医杂志,2012,40(2):477-480.
[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:354-356.
[13] 成海平,高建青,霍秀敏. 影响因素试验在药物研发中的作用及其关注点[J]. 中国药学杂志,2008,43(2):158-160.
[14] 李芳. 蟾毒配基静脉注射载药系统的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2010.
[15] 王涛. 蟾酥脂质微球注射液的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2007.
[16] 辛少鲲,司南,王宏洁,等. 蟾皮中亲水性成分的化学研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(20):3767-3772.
[17] 陈瀛澜,郝艳艳,郭夫江,等. 蟾酥化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药,2017,48(12):2579-2588.
[18] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1987:170.
[19] YE M, GUO H, GUO H, et al. Simultaneous determination of cytotoxic bufadienolides in the Chinese medicine ChanSu by high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array and mass spectrometry detections[J]. J Chromatogr B,2006,838(2):86-95.
[20] 刘冬,杜守颖,何秀峰,等. 蟾酥中3种脂溶性有效成分提取工艺及含量测定方法[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):69-72.

[责任编辑 刘德文]