

蟾酥原浆 HPLC 指纹图谱建立及 8 种成分含量测定

张东红¹, 金辉辉^{2,3}, 刘星雨^{2,3}, 方倩倩⁴, 姚建标^{2,3}, 王伟¹, 王如伟^{1,2,3*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310052

2. 浙江康恩贝制药股份有限公司, 浙江 杭州 310052

3. 浙江省中药制药技术重点实验室, 浙江 杭州 310052

4. 内蒙古康恩贝药业有限公司圣龙分公司, 内蒙古 鄂尔多斯 017415

摘要: **目的** 建立蟾酥原浆 HPLC 指纹图谱及原浆中 8 种成分含量测定方法, 对不同产地蟾酥原浆进行成分含量差异比较, 同时进行质量评价。**方法** 以乙腈-水为流动相, 梯度洗脱, 检测波长 296 nm, 体积流量 1.2 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL; 建立蟾酥原浆指纹图谱, 测定 8 个成分含量, 对结果进行聚类分析和主成分分析。**结果** 18 批样品指纹图谱中有 12 个共有峰, 各样品相似度有所差异, 8 个成分在各自范围内线性关系良好 ($r^2 \geq 0.9995$), 精密度、重复性 $RSD < 0.5\%$, 在 30 h 内稳定性较好 ($RSD < 0.7\%$), 日蟾毒它灵、沙蟾毒精、远华蟾蜍精、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基和脂蟾毒配基回收率平均值分别为 103.7%、103.0%、102.9%、103.0%、103.9%、100.3%、103.4%、103.2%, 且 RSD 均小于 1.2%, 8 个成分含量测定结果及聚类分析和主成分分析结果可知不同产地原浆质量有所差异。**结论** 该方法简便可靠, 为蟾酥原浆质量把控提供一定依据及参考。**关键词:** 蟾酥原浆; HPLC; 日蟾毒它灵; 沙蟾毒精; 远华蟾蜍精; 蟾毒它灵; 华蟾毒它灵; 蟾毒灵; 华蟾酥毒基; 脂蟾毒配基; 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)02-0490-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.028

Establishment of HPLC fingerprint of *Bufo venenum* pulp and determination of eight components

ZHANG Dong-hong¹, JIN Hui-hui^{2,3}, LIU Xing-yu^{2,3}, FANG Qian-qian⁴, YAO Jian-biao^{2,3}, WANG Wei¹, WANG Ru-wei^{1,2,3}

1. Pharmacy College of Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310052, China

2. Zhejiang Conba Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310052, China

3. Zhejiang Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Technology, Hangzhou 310052, China

4. Inner Mongolia Conba Pharmaceutical Co., Ltd., Shenglong Branch, Erdos 017415, China

Abstract: **Objective** To establish the HPLC fingerprint of *Bufo venenum* pulp and the determination methods of eight components in *Bufo venenum* pulp, and compare the differences of components of *Bufo venenum* pulp in different origins for quality evaluation. **Methods** The mobile phase was acetonitrile and water with a gradient elution program. The detection wavelength was set at 296 nm. The flow rate was 1.2 mL/min. The column temperature was set at 30 °C, and 10 μL of the test solution was injected. HPLC fingerprint of *Bufo venenum* pulp was established and eight components were determined. The results were analyzed by cluster analysis and principal component analysis. **Results** There were 12 common peaks in the HPLC fingerprints of 18 batches of samples, and the similarity of each sample was different. The linear relationship of eight components was good ($r^2 > 0.9995$), RSD of precision and repeatability was less than 0.5%, and the stability was also good within 30 h ($RSD < 0.7\%$). The average recoveries of gamabufotalin, arenobufagin, telocinobufagin, bufotaline, cinobufotalin, bufalin, cinobufagin and resibufogenin were 103.7%, 103.0%, 102.9%, 103.0%, 103.9%, 100.3%, 103.4%, and 103.2% respectively, and RSD was all less than 1.2%. The results of the content determination, cluster analysis and principal component analysis of eight components showed that *Bufo venenum* pulp in different habitats were different from each other. **Conclusion** The method is simple and reliable, which can provide some basis and reference for quality control of *Bufo venenum* pulp.

Key words: *Bufo venenum* pulp; HPLC; gamabufotalin; arenobufagin; telocinobufagin; bufotaline; cinobufotalin; bufalin; cinobufagin; resibufogenin; fingerprint; cluster analysis; principal component analysis

收稿日期: 2019-07-03

基金项目: 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目 (2017R410043)

作者简介: 张东红 (1995—), 女, 在读硕士研究生。E-mail: 2356704579@qq.com

*通信作者 王如伟, 男, 博士, 教授级高级工程师。E-mail: wangrw@conbagroup.com

蟾酥为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的干燥分泌物, 具有抗肿瘤、强心、抗心肌缺血、抗菌、镇痛和麻醉等药理作用^[1]。蟾酥分布范围广泛, 在辽宁、山东、浙江等地均有分布^[2], 其中山东所产的蟾酥量大质优, 誉为“东酥”^[3]。随着时代发展, 近年来出现了各种生态环境破坏, 农药残留, 对蟾蜍肆意捕抓等现象^[4], 同时蟾酥需求量逐年增加, 价格随之日益上升导致掺假掺杂问题时有发生, 有文献报道^[5-6], 蟾酥质量参差不齐的主要原因是采集及初加工的不规范, 关键影响因素包括了采集基原、产地、部位等, 可知蟾酥质量在很大程度上与源头的采集相关。有学者文献^[7]对不同产地蟾酥原浆中成分差异进行了研究, 发现不同产地蟾酥原浆成分组成差异明显。另有学者分析表明秋季采集的中华大蟾蜍耳后腺分泌物中蟾毒配基类成分含量比春季的较高, 而且秋季采浆可以避开春季蟾蜍产卵繁殖期, 以使资源可持续发展^[8]。故为保证蟾酥用药的安全性和有效性, 蟾酥原浆的质量控制也需引起重视。《中国药典》2015 年版中规定蟾酥中华蟾酥毒基和脂蟾毒配基总质量分数不少于 6.0%, 其他成分未明确规定含量范围, 但现今已有文献证明蟾酥中其他成分例如蟾毒灵等药理作用也十分广泛^[9]。中药特点为多成分多靶点, 以整体协同发挥疗效, 多样的成分与人体相互作用机制也较为复杂, 以单一或几种成分对中药进行质量评价是不全面的^[10], 故本实验建立了蟾酥原浆 HPLC 指纹图谱测定方法, 并在《中国药典》2015 年版测定华蟾酥毒基和脂蟾毒配基 2 种成分基础上新增 6 个成分, 对蟾酥原浆进行了更全面的质量评价, 并对不同产地原浆进行比较分析, 为从源头把控蟾酥质量提供一定参考依据。

1 材料

1.1 仪器

液相色谱仪 (Agilent 1260, 美国 Agilent 公司); KQ-250DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Sartorius BS 210S 十万分之一电子天平 (德国 赛多利斯)。

1.2 试剂

对照品蟾毒灵 (批号 111981-201501)、华蟾酥毒基 (批号 110803-201406)、脂蟾毒配基 (批号 110718-201809) 均购自中国食品药品检定研究院, 质量分数均大于 98%; 对照品日蟾毒它灵 (批号 PS010796)、远华蟾蜍精 (批号 PS010798)、华蟾毒

它灵 (批号 PS010795) 均购自成都普思生物科技股份有限公司, 质量分数均大于 98%; 对照品沙蟾毒精 (批号 5283)、蟾毒它灵 (批号 3425) 均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司, 质量分数均大于 98%。甲醇 (色谱级, 永华化学科技 (江苏) 有限公司)。蟾酥原浆 (采于山东、四川、湖南、湖北、甘肃和辽宁) 由内蒙古康恩贝药业有限公司圣龙分公司提供。

1.3 样品

蟾酥原浆采于山东、四川、湖南、湖北、甘肃和辽宁, 由内蒙古康恩贝药业有限公司圣龙分公司提供, 经浙江康恩贝制药股份有限公司何厚洪高级工程师鉴定为中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑框蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的分泌物, 具体信息见表 1。

表 1 样本信息

Table 1 Information of samples

样品编号	产地	批号
S1	四川	20190121A-1
S2	四川	20190121A-2
S3	四川	20190121A-3
S4	四川	20190121A-4
S5	山东	20190121B-1
S6	山东	20190121B-2
S7	山东	20190121B-3
S8	山东	20190121B-4
S9	湖北	20190121C-1
S10	湖北	20190121C-2
S11	湖北	20190121C-3
S12	湖北	20190121C-4
S13	湖南	20190121D-1
S14	湖南	20190121D-2
S15	湖南	20190121D-3
S16	湖南	20190121D-4
S17	甘肃	20190603E
S18	辽宁	20190603F

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Athena C₁₈-WP (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 (A)-水 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~5 min, 25% A; 5~20 min, 25%~40% A; 20~30 min, 40%~95% A), 检测波长 296 nm, 体积流量 1.2 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取日蟾毒它灵、沙蟾毒精、远华蟾蜍精、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基对照品适量, 精密称定, 用甲醇稀释溶解并定容至刻度, 制成质量浓度分别为日蟾毒它灵 0.159 5 mg/mL、沙蟾毒精

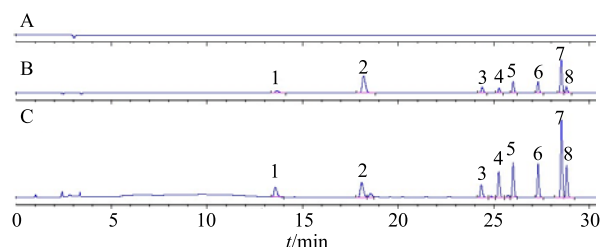
0.522 3 mg/mL、远华蟾蜍精 0.183 8 mg/mL、蟾毒它灵 0.395 5 mg/mL、华蟾毒它灵 0.238 7 mg/mL、蟾毒灵 0.641 8 mg/mL、华蟾酥毒基 0.303 6 mg/mL、脂蟾毒配基 0.330 3 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取蟾酥原浆 10 g，精密称定，加水 20 mL，搅拌均匀（按《中国药典》2015 年版水分测定烘干法测定水分含量），取 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 75% 甲醇溶液 20 mL，称定质量，超声处理 30 min，放冷至室温，再称定质量，用 75% 甲醇补足减失质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2.3 阴性溶液制备 配制 75% 甲醇溶液即得。

2.3 指纹图谱建立

2.3.1 专属性考察 分别取阴性溶液、混合对照品溶液和供试品溶液进样，记录色谱图（图 1），主成分色谱峰的保留时间一致，各成分相互无干扰。



1-日蟾毒它灵 2-沙蟾毒精 3-远华蟾蜍精 4-蟾毒它灵 5-华蟾毒它灵 6-蟾毒灵 7-华蟾酥毒基 8-脂蟾毒配基
1-gamabufotalin 2-arenobufagin 3-telocinobufagin 4-bufotaline
5-cinobufotalin 6-bufalin 7-cinobufagin 8-resibufogenin

图 1 阴性溶液 (A)、混合对照品溶液 (B) 和供试品溶液 (C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatogram of blank (A), mixed reference (B) and test solution (C)

2.3.2 精密度试验 取同一供试品 (S1)，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次，以日蟾毒它灵为参照峰，测得 12 个峰相对保留时间 RSD 在 0.020%~0.043%，相对峰面积 RSD 在 0.11%~0.42%，精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批供试品 (S1)，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 6 份，在“2.1”项色谱条件下连续进样，测得 12 个峰相对保留时间 RSD 在 0.033%~0.050%，相对峰面积 RSD 在 0.18%~0.53%，重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取上述同一供试品 (S1) 溶液室温放置，在“2.1”项色谱条件下分别在 0、4、8、

12、16、21、28、30 h 进样 10 μ L，测得各共有峰相对保留时间 RSD 在 0.021%~0.038%，相对峰面积 RSD 在 0.29%~0.63%，表明溶液 30 h 内稳定。

2.3.5 指纹图谱建立 取 S1~S18 供试品溶液各 10 μ L，进样后得到 18 批样品的 HPLC 图谱，将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012.130723 版本)”进行分析得到 12 个共有峰 (图 2) 及对照指纹图谱 R (图 3)，将对照指纹图谱与对照品比较可确定其中 8 个峰，分别为日蟾毒它灵 (1 号峰)、沙蟾毒精 (2 号峰)、远华蟾蜍精 (6 号峰)、蟾毒它灵 (7 号峰)、华蟾毒它灵 (9 号峰)、蟾毒灵 (10 号峰)、华蟾酥毒基 (11 号峰) 和脂蟾毒配基 (12 号峰)。

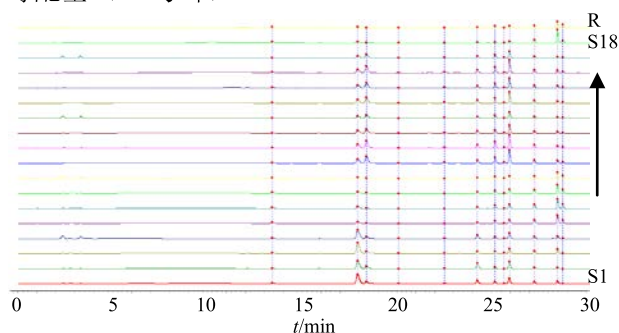
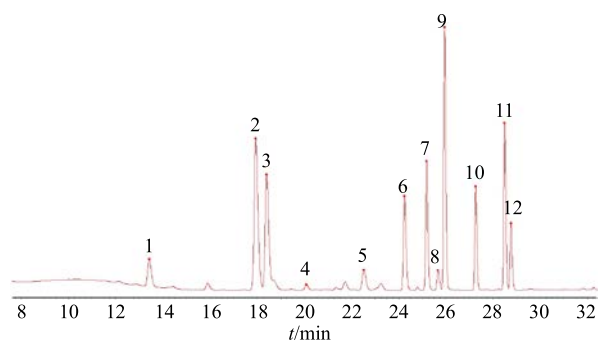


图 2 18 批样品 HPLC 指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of 18 batches of samples



1-日蟾毒它灵 2-沙蟾毒精 6-远华蟾蜍精 7-蟾毒它灵 9-华蟾毒它灵 10-蟾毒灵 11-华蟾酥毒基 12-脂蟾毒配基
1-gamabufotalin 2-arenobufagin 6-telocinobufagin 7-bufotaline
9-cinobufotalin 10-bufalin 11-cinobufagin 12-resibufogenin

图 3 对照指纹图谱

Fig. 3 HPLC spectrum of reference fingerprint

2.3.6 相似度分析 将 18 批蟾酥原浆色谱图与对照指纹图谱比较，各批次的相似度在 0.562~0.942，表明不同产地批次的蟾酥原浆质量存在差异，从表 2 中相似度数据可知样品 S17 相似度较其他样品较低，其

表 2 18 批样品相似度

Table 2 Similarities of 18 batches of samples

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.852	S10	0.932
S2	0.873	S11	0.942
S3	0.837	S12	0.936
S4	0.863	S13	0.940
S5	0.785	S14	0.938
S6	0.782	S15	0.932
S7	0.790	S16	0.923
S8	0.773	S17	0.562
S9	0.934	S18	0.739

他样品相似度与产地相关,同一产地不同批次的样品相似度较为相似,产地间相比较相似度又有所差异。

2.4 蟾酥原浆含量测定

2.4.1 线性关系考察 精密移取“2.2.1”项下各对照品溶液适量,稀释成一系列不同质量浓度的对照品溶液($n=5$),按照“2.1”项下色谱条件进行测定,以对照品质量浓度为横坐标(X),以对照品峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,进行线性回归,得到 8 种成分的回归方程,结果见表 3。

2.4.2 精密度试验 按“2.2.2”项下方法制备一份供试品溶液,连续进样 6 次,记录各成分峰面积,

表 3 8 种成分线性关系结果

Table 3 Result of linear-regression analysis of eight constituents

成分	回归方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	相关系数
日蟾毒它灵	$Y=8.5281X-3.9511$	1.910~41.390	0.9997
沙蟾毒精	$Y=7.5458X+5.1594$	11.760~326.800	0.9997
远华蟾蜍精	$Y=8.1356X-8.0274$	2.941~69.840	0.9995
蟾毒它灵	$Y=7.4258X-7.0940$	1.574~55.090	0.9988
华蟾毒它灵	$Y=6.7794X-1.1000$	4.774~109.800	0.9998
蟾毒灵	$Y=8.1998X-10.8874$	5.134~102.700	0.9998
华蟾酥毒基	$Y=6.4783X+15.7591$	16.030~400.800	0.9995
脂蟾毒配基	$Y=7.3430X-4.0066$	11.540~288.400	0.9998

结果日蟾毒它灵、沙蟾毒精、远华蟾蜍精、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基 RSD 依次分别为 0.22%、0.12%、0.22%、0.11%、0.43%、0.18%、0.08%、0.20% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取上述同一份(S1)供试品溶液室温放置,分别在 0、4、8、12、16、21、28、30 h 进样 10 μL ,结果表明日蟾毒它灵、沙蟾毒精、远华蟾蜍精、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基 RSD 分别为 0.44%、0.71%、0.70%、0.75%、0.93%、0.66%、0.65%、0.62%,表明溶液 30 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 取同一批样品(S1),按照“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按照“2.1”项下色谱条件进行测定,计算各成分含量,结果样品中日蟾毒它灵、沙蟾毒精、远华蟾蜍精、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基峰面积 RSD 分别为 0.38%、0.35%、0.34%、0.29%、0.67%、0.42%、0.29%、0.39% ($n=6$),表明重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 称取 0.25 g 供试品 6 份,

分别加入等量对照品后按“2.2.2”项下方法制备溶液,进样测定。6 份样品分别计算平均回收率和 RSD。日蟾毒它灵、沙蟾毒精、远华蟾蜍精、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基平均加样回收率为 103.7%、103.0%、102.9%、103.0%、103.9%、100.3%、103.4%、103.20%,RSD 分别为 1.1%、0.69%、0.72%、0.94%、0.60%、0.44%、0.56%、0.66%。

2.4.6 样品测定 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定所有批次样品,计算不同批次原浆的 8 个成分含量,结果见表 4。

2.5 聚类分析

采用 SPSS19.0 软件,以 18 批不同产地的蟾酥原浆中 8 个成分含量为变量,进行聚类分析。由图 4 结果可知,当结果聚为 2 类时四川产地样本为一类,其余为一类,可知四川产地的样本较为相似,其余各产地的样本较为相似。结果聚为 3 类时四川产地样本聚为一类,山东产地和甘肃、辽宁样本聚为第 2 类,湖南和湖北样本聚为第 3 类,可知湖南和湖北产地样本更为相似,山东、辽宁和甘肃产地样本更为相似。

表 4 不同产地批次蟾酥原浆中 8 个成分含量测定结果 ($n=2$)Table 4 Content determination results of eight components in batches from different producing areas ($n=2$)

批号	质量分数/%								成分总和
	日蟾毒它灵	沙蟾毒精	远华蟾蜍精	蟾毒它灵	华蟾毒它灵	蟾毒灵	华蟾酥毒基	脂蟾毒配基	
S1	0.616	9.090	2.213	1.381	3.315	1.155	1.645	0.177	19.59
S2	0.477	7.485	3.914	1.023	4.496	0.714	0.626	0.067	18.80
S3	0.700	9.637	1.447	1.476	2.724	1.387	2.396	0.325	20.09
S4	0.597	8.688	2.490	1.404	3.584	1.081	1.572	0.219	19.64
S5	1.022	1.658	1.012	1.888	2.416	1.936	5.164	2.134	17.23
S6	1.090	2.027	1.053	2.256	2.657	2.291	5.916	2.795	20.08
S7	1.057	1.638	1.049	1.870	2.440	1.894	4.979	2.270	17.20
S8	0.748	1.255	0.706	1.394	1.752	1.460	3.978	1.812	13.10
S9	0.380	2.210	1.557	2.466	5.150	1.081	0.987	0.513	14.34
S10	0.362	2.225	1.498	2.426	5.017	0.980	0.812	0.447	13.77
S11	0.246	2.086	1.266	1.684	4.116	0.769	0.632	0.397	11.20
S12	0.366	2.387	1.520	2.314	5.198	1.033	0.945	0.530	14.29
S13	0.376	2.526	1.594	2.420	5.278	0.987	0.739	0.434	14.35
S14	0.491	2.586	1.589	2.773	5.478	1.194	1.115	0.574	15.80
S15	0.449	2.551	1.613	2.678	5.814	1.126	1.010	0.593	15.83
S16	0.369	2.219	1.461	2.258	5.182	0.963	0.821	0.461	13.73
S17	0.997	1.504	0.622	0.473	1.348	2.053	9.891	1.623	18.51
S18	1.091	1.684	0.619	1.756	1.596	1.573	4.835	2.568	15.72
平均值	0.635	3.525	1.513	1.886	3.753	1.316	2.670	0.997	16.29

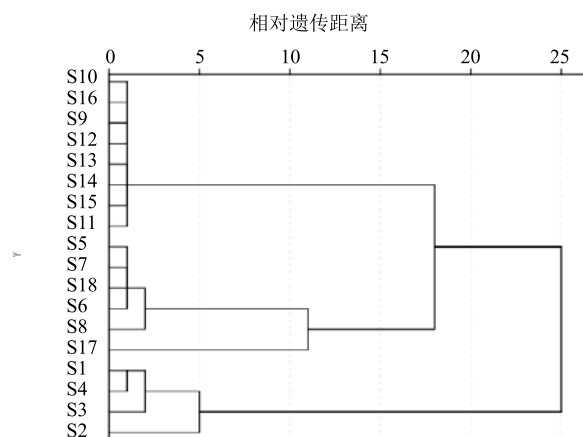


图 4 18 批样品聚类树状图

Fig. 4 Dendrogram of 18 batches of samples

2.6 主成分分析

采用 SPSS 19.0 软件, 将 18 批不同产地的蟾酥原浆中 8 个成分含量导入进行主成分分析。表 5 表明前 2 个主成分特征值大于 1, 对方差的贡献率分别占 62.929% 和 24.090%, 从图 5 数据来看, 前 2 个主成分较陡, 后面成分间较为平坦, 由此可见前 2 个主成分足够代表原来变量。从图 6 来看, 四川产地可聚为一类, 湖南和湖北产地可聚为一类, 山东、甘肃和辽宁可聚为一类, 整体与聚类分析结果一致。

表 5 8 个成分的初始特征值和贡献率

Table 5 Initial eigenvalues and contribution rates of eight components

主成分	初始特征值		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.034	62.929	62.929
2	1.927	24.090	87.019
3	0.522	6.526	93.544
4	0.295	3.683	97.227
5	0.189	2.358	99.586
6	0.023	0.291	99.877
7	0.006	0.081	99.957
8	0.003	0.043	100.000

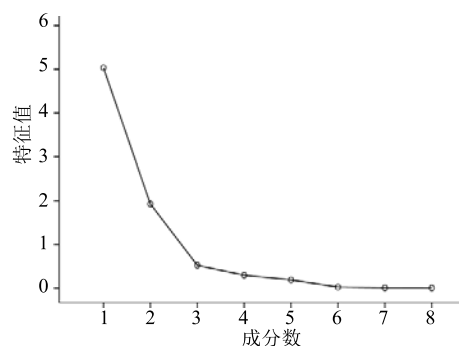


图 5 样品主成分分析碎石图

Fig. 5 Scree plot of various samples

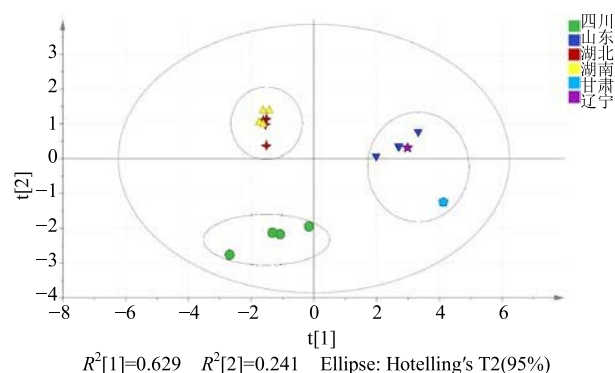


图 6 不同产地样品散点图

Fig. 6 PCA scatter plot map of samples from different producing areas

3 讨论

本研究对蟾酥原浆检测的色谱条件进行了优化,以水、纯乙腈作为流动相,检测时间为 30 min。另对蟾酥原浆供试品制备方法也进行溶剂类型(水、25%甲醇、50%甲醇、75%甲醇、甲醇),提取方式(加热回流,超声),溶剂用量(10、20、30 mL),提取时间(15、30、45、60 min)等因素进行考察,通过对比峰形、峰面积及保留时间等最终得出以 75%甲醇 20 mL,超声提取 30 min 为最优方案。该方法简化流动相(未添加其他酸碱化学成分)从而减少了对色谱柱的损伤,同时检测与供试品制备时长也较短,能更方便、快捷、准确地检测出蟾酥原浆中 8 种成分含量。

从含量测定结果中可知 6 个产地间各组分含量差异较大,同一产地不同批次间各组分含量也存在差异。其中湖北与湖南 2 个产地成分含量大致相似,原浆中 8 个成分含量总和较其他产地低,但华蟾毒它灵含量较高。四川产地原浆中沙蟾毒精含量较其他产地高,山东、甘肃和辽宁 3 个产地则华蟾毒基与脂蟾毒配基含量相对较高。

从聚类分析及主成分分析结果可知,不同产地的原浆有所差异,且 2 个结果一致,总体分为 3 类。结合 8 个成分含量测定结果可知四川产地分为一类与其沙蟾毒精成分较高有关,湖南湖北分为一类也与其沙蟾毒精成分含量大致相似有关,表明蟾酥原浆质量与外界环境具有一定相关性,但不绝对相关。结果综合说明不能只关注华蟾毒基和脂蟾毒配基 2 种成分来判定蟾酥原浆质量,应以多成分、多指标更好地控制药材质量。

采用特征图谱、指纹图谱技术可实现对中药

材、中成药的整体评价,达到质量可控的目的^[10]。现今蟾酥中越来越多的物质成分被关注,有学者认为对蟾酥质量应该不止关注华蟾毒基和脂蟾毒配基 2 种成分,其余的蟾毒配基类化合物也具有相应药理作用^[10]。有文献报道^[11]总结蟾酥中华蟾毒基、脂蟾毒配基、蟾毒灵、蟾毒它灵、日蟾毒它灵等多个成分都能通过抑制 Na^+ , K^+ -ATP 酶^[12]来达到强心作用,其中蟾毒灵和华蟾毒基还分别能抑制 L-Ca^{2+} 释放通道,增加动作电位来达到强心作用。本研究建立了蟾酥原浆指纹图谱,并对原浆中均具有强心作用的 8 种成分进行了含量测定,为蟾酥原浆质量提升及采购筛选提供理论参考依据。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 缪珠雷,杨鸣泽. 不同产地及蟾蜍品种来源蟾酥华蟾毒基和脂蟾毒配基测定与比较 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 828-830.
- [3] 盛华刚. 蟾酥的提取工艺研究 [J]. 药学研究, 2013, 32(2): 66-68.
- [4] 国家专利新技术—铺就养蟾创富路 [J]. 农村百事通, 2017(3): 73.
- [5] 门吉帅,和飞,孙崇峰,等. 蟾酥采集与初加工过程品质关键影响因素分析 [J]. 亚太传统医药, 2018, 14(4): 116-118.
- [6] 唐哲栋,吴世福,林桂涛. 产地对蟾酥鲜浆成分组成影响的研究 [J]. 山东中医杂志, 2014, 33(6): 488-491.
- [7] 李宗云,曲婷,王鹏飞,等. 毒性中药蟾酥质量研究现状及关键影响因素分析 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(5): 863-869.
- [8] 王浩天. 蟾酥中有效成分的提取分离及抗肿瘤效果的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [9] 金向群,张豁中,姚乃贤,等. 薄层扫描法测定春秋两季中华大蟾蜍耳后腺分泌物中蟾毒配基类化合物含量 [J]. 药物分析杂志, 1992, 12(1): 30.
- [10] 姚令文,刘燕,郑笑为,等. 指纹图谱、特征图谱技术在中药材和中成药中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27(8): 934-939.
- [11] 孙崇峰,范圣此,罗毅,等. 蟾酥化学成分及其人工合成的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(13): 3183-3192.
- [12] Hua X, Li P, Wang Y, et al. Na^+/K^+ -ATPase $\alpha 3$ mediates sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to bufalin [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(3): 825-830.