

SPE-UV 法快速测定蟾酥鲜浆中蟾毒灵、 华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的总含量

孔瑶^{1,2}, 姜鹏^{1,2}, 詹常森^{1,2*}

(1. 上海和黄药业, 上海 201400; 2. 上海中药固体制剂创新工程技术研究中心, 上海 201400)

摘要 目的:建立固相萃取(SPE)紫外分光光度法(UV)快速检测蟾酥鲜浆中蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基总含量的方法。**方法:**采用 Waters Oasis HLB 固相萃取小柱纯化蟾酥鲜浆样品,清洗液为 29% 乙腈,清洗体积为 5 mL,洗脱液为 95% 乙腈,洗脱体积为 6 mL,洗脱液采用紫外分光光度法检测,检测波长为 295 nm。**结果:**建立了 HLB SPE-UV 法快速测定蟾酥鲜浆中蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基总含量的方法,该方法线性关系良好($r > 0.999$),精密度高($RSD < 5\%$),重复性好($RSD < 5\%$),样品回收率在 96.34% ~ 104.76% 范围内,均符合要求。**结论:**该方法样品处理简单,检测快速简便,重复性好,准确度高,精密度高。作为蟾酥药材中间体的质量控制,填补了蟾酥鲜浆快速检测方法的空白。

关键词:固相萃取;紫外分光光度法;蟾酥鲜浆;蟾毒灵;华蟾酥毒基;脂蟾毒配基

中图分类号:R 921.2

文献标识码:A

文章编号:1009-3656(2024)06-0618-06

doi:10.19778/j.chp.2024.06.015

Rapid determination of total content of bufalin, cinobufotalin and lipobufotalin in Bufonis Venenum pulp by solid phase extraction (SPE)-UV spectrometry

KONG Yao^{1,2}, JIANG Peng^{1,2}, ZHAN Changsen^{1,2*}

(1. Shanghai Hutchison Pharmaceuticals Co., Ltd, Shanghai 201499, China;

2. Shanghai Engineering Research Center for Innovation of Solid Preparation of TCM, Shanghai 201499, China)

Abstract Objective: To establish a method for SPE purification of Bufonis Venenum pulp and determination of total content of bufalin, cinobufotalin and lipobufotalin in Bufonis Venenum pulp by UV spectrophotometry.

Methods: Using Waters Oasis HLB solid-phase extraction small column to purify Bufonis Venenum pulp, the cleaning solution was 29% acetonitrile, the cleaning volume was 5 mL, the eluent was 95% acetonitrile, the elution volume was 6 mL, the elution was detected by UV spectrophotometer and the detection wavelength was 295 nm.

Results: The method has good linear relationship ($r > 0.999$), high precision ($RSD < 5\%$), good repeatability ($RSD < 5\%$), and the sample recovery rate within in the ranges of 96.34% – 104.76%, which meets the requirements. **Conclusion:** The sample processing method was rapid and simple, with good repeatability, high accuracy and high precision. As the quality control of Bufonis Venenum medicinal material intermediate, it fills the gap in the detection method of Bufonis Venenum pulp.

Key words: solid phase extraction; UV spectrophotometry; Bufonis Venenum pulp; bufalin; cinobufotalin; lipobufotalin

第一作者简介:孔瑶,硕士,工程师;研究方向:中药标准研究。Tel:021-62506452-341;E-mail:kongyao@shpl.com.cn

* 通讯作者简介:詹常森,博士,教授级高级工程师;研究方向:中药活性成分与质量标准。Tel:021-62509065;E-mail:zhan-changsen@shpl.com.cn

蟾酥鲜浆为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 (*Bufo bufo gargarizans* Cantor) 或黑框蟾蜍 (*Bufo melanostictus* Schneider) 洗净挤取的耳后腺和皮肤腺的白色浆液。蟾酥鲜浆经加工,干燥制成蟾酥^[1]。蟾酥的化学成分十分复杂,包括蟾蜍内酯类、吲哚类生物碱、甾醇类、肽类等,其中蟾蜍内酯类是蟾酥药材非常重要的活性成分^[2-5]。具有强心、抗心肌缺血、抗肿瘤、抗菌、镇痛和麻醉等药理作用^[6-9]。

蟾酥为名贵药材,作为许多中成药的原料,年需求量较大,蟾酥鲜浆作为蟾酥药材的中间体,其质量优劣直接影响蟾酥药材的质量高低,因此蟾酥鲜浆的质量控制非常重要^[10-11]。2020 版《中国药典》收载有蟾酥的药品标准,含量测定项检测蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的总含量^[1],该方法不利于在鲜浆采集现场应用,不利于蟾酥鲜浆的质量管控,因此中药材行业需要一种简便、快速的蟾酥鲜浆快速检测方法。

固相萃取 (SPE) 技术是建立在液-固色谱理论基础上的分离、纯化方法^[12],可以有效将分析物与干扰组分分离,具有高选择性、高回收率、低溶剂消耗、操作简便等特点^[13-14]。本文采用 SPE 小柱有效的将蟾酥鲜浆中的干扰成分与分析成分(蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基)有效分离,从而能够使用简单的紫外分光光度计实现目标成分的快速检测。通过方法学考察,并与 2020 版《中国药典》中方法平行比对,验证了其准确性及可行性。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

TU-1901 plus 紫外-可见分光光度计(上海优若普科学仪器有限公司);204E 分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);KQ-800DE 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司);1000 μ L 移液器(德国普兰德公司);涡旋振荡器(美国 Thermo 公司);HE83 快速水分测定仪(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);Agilent1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);Oasis PRiME HLB Cartridge SPE 小柱(Waters, 3cc/150 mg);Sep-Pak Vac C₁₈ SPE 小柱(Waters, 3cc/200 mg)。

1.2 试剂

华蟾酥毒基(批号 110803-201807,纯度:99.60%)购至中国食品药品检定研究院。甲醇(分析纯,国药集团);乙腈(色谱纯,Thermo);超纯水由 Milli-Q 纯水系统制备。

1.3 样品

蟾酥鲜浆样品见表 1。

表 1 样品批号及产地信息

Tab. 1 Sample batch number and origin information

No.	Lot No.	Source	Place of origin
1	202205-1	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Wanzhou, Chongqing
2	202206-2	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Yangzhou, Jiangsu
3	202206-3	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Nanyang, Henan
4	202206-4	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Rizhao, Shandong
5	202206-5	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Nantong, Jiangsu
6	202206-6	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Xuancheng, Anhui
7	202206-7	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Jining, Shandong
8	202206-8	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Anqing, Anhui
9	2019080903	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Rizhao, Shandong
10	2019080905	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Rizhao, Shandong
11	2018111502	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Jining, Shandong
12	2018080702	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Jining, Shandong
13	2018080703	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Jining, Shandong
14	201811502	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Rizhao, Shandong
15	201811503	<i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor	Rizhao, Shandong

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制

取华蟾酥毒基对照品适量,精密称定,加 95% 乙腈制成每 1 mL 含 100 μ g 的溶液,即得。

35.02 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的华蟾酥毒基对照品溶液:取华蟾酥毒基对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 35.02 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的对照品溶液,用于准确度实验。

2.2 供试品溶液的制备

取蟾酥鲜浆 200 mg,精密称定,置 50 mL 离心管中,精密加入 12.5 mL 水,涡旋至鲜浆溶散,无结块,加入 12.5 mL 甲醇,超声 30 min,混匀,放冷,即可。精密量取提取液 1 mL,上样至 Oasis PRiME HLB Cartridge (Waters, 3cc/150 mg) 小柱,用 5 mL 29% 乙腈清洗,弃去清洗液,再用 6 mL 95% 乙腈洗脱,洗脱液至 10 mL 容量瓶中,用 95% 乙腈定容,即得供试品溶液。

2.3 含量测定(《药典法》)^[1]

2.3.1 对照品溶液的制备 取华蟾酥毒基对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 100 μ g 的溶液,即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品细粉约 25 mg,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用甲醇

补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相 A,0.3% 乙酸溶液为流动相 B,梯度洗脱,0~15 min 28% A→54% A,15~35 min 54% A;柱温为 30℃;流速为每分钟 0.6 mL;检测波长为 296 nm。

2.4 紫外分光光度法

以 95% 乙腈为空白对照,波长 295 nm 检测。

2.5 样品前处理优化

2.5.1 提取方法优化 本研究考察了不同提取方法(涡旋、超声、涡旋+超声)、不同提取溶剂(水、50% 甲醇、80% 甲醇、甲醇)。具体操作为:先加水

(根据比例计算加水量,纯甲醇提取直接加甲醇)涡旋,将蟾酥鲜浆溶散,后加甲醇(根据比例计算加甲醇量,纯水提取不加甲醇)超声,提取溶剂分别为等倍量的 100% 水、50% 甲醇、80% 甲醇、100% 甲醇。经考察选择了超声+涡旋的提取方式,50% 甲醇提取。50% 的甲醇既可以解决结块及粘壁的问题,保证高提取效率,又不影响其分析成分在 SPE 小柱的吸附及杂质的清洗。对提取时间(20、30、40 min)、提取倍量(50 倍、125 倍、250 倍)进行了考察,最终确定涡旋加超声的提取方式,50% 甲醇为提取溶剂,提取时间为 30 min,提取倍量为 125 倍,结果见图 1。

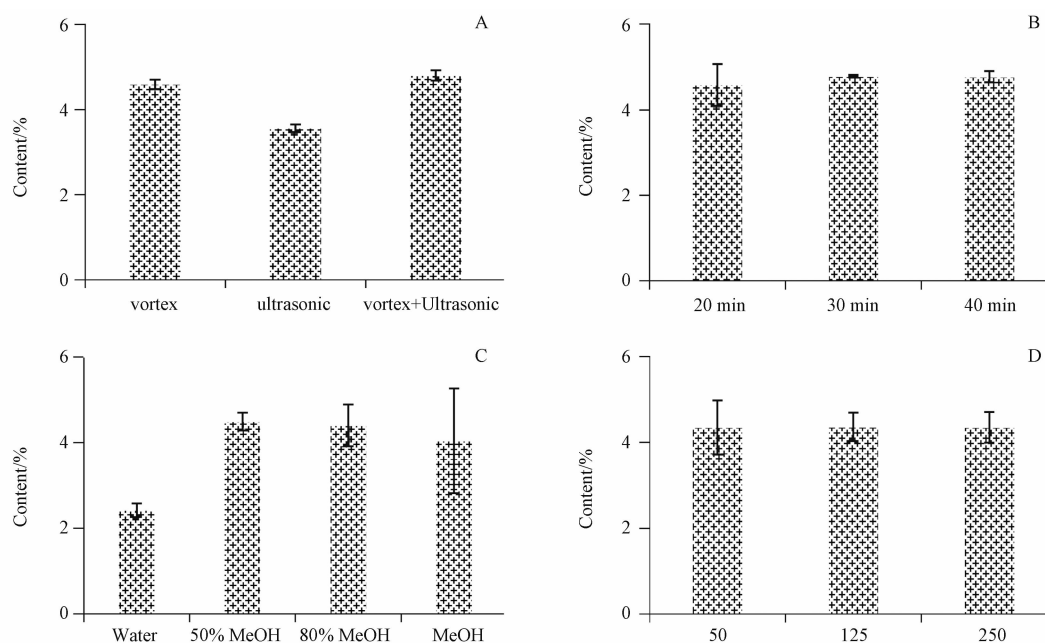


图1 提取方式(A)、提取时间(B)、提取溶剂(C)、提取倍量(D)的考察

Fig. 1 Optimization of extraction method (A), extraction time (B), extraction solvent (C), and extraction multiplier (D)

2.5.2 纯化方法优化 参考目标化合物在 C_{18} 色谱柱的出峰时间,蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基均较杂质出峰时间晚,为了有效去除杂质对分析成分的干扰,提高检测结果的准确性,试验中选择了无需活化、低溶剂消耗、高选择性的 Oasis PRiME HLB-3cc/150 mg 的小柱。样品经 Oasis PRiME HLB-3cc/150 mg 小柱处理后,可以有效去除杂质,对分析成分有效的富集,结果见图 2。为得到最佳的试验条件,分别对清洗液浓度、清洗液体积、上样体积、洗脱速度进行了优化。试验中考察了不同浓度的清洗液(28% 乙腈、28.5% 乙腈、29% 乙腈、29.5% 乙腈、30% 乙腈)和清洗液体积(4.5、4.8、5.0、5.2、5.5 mL),结果见图 3,当乙腈浓度为 29%、淋洗液体积

为 5 mL 时,杂质可以有效清除,故选择 5 mL 29% 乙腈清洗。考虑到人为操作的不确定性,对洗脱速度(5、15、30 $s \cdot mL^{-1}$)进行了考察,结果不同的速度对其除杂效果没有明显差异。基于紫外分光光度计的最佳检测范围,上样体积为 1 mL 时,浓度适中。

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察 精密吸取 $100.10 \mu g \cdot mL^{-1}$ 华蟾酥毒基对照品母液,用 95% 乙腈分别稀释至浓度为 15.015、20.020、30.030、35.035、40.040、45.045、50.050、55.055、60.060、65.065 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 的对照品溶液,以 95% 乙腈为空白对照,用紫外分光光度计于波长 295 nm 下测定吸光度,以对照品浓度(X)为横坐标,以吸光度(Y)为纵坐标绘制标准曲线。得到线性

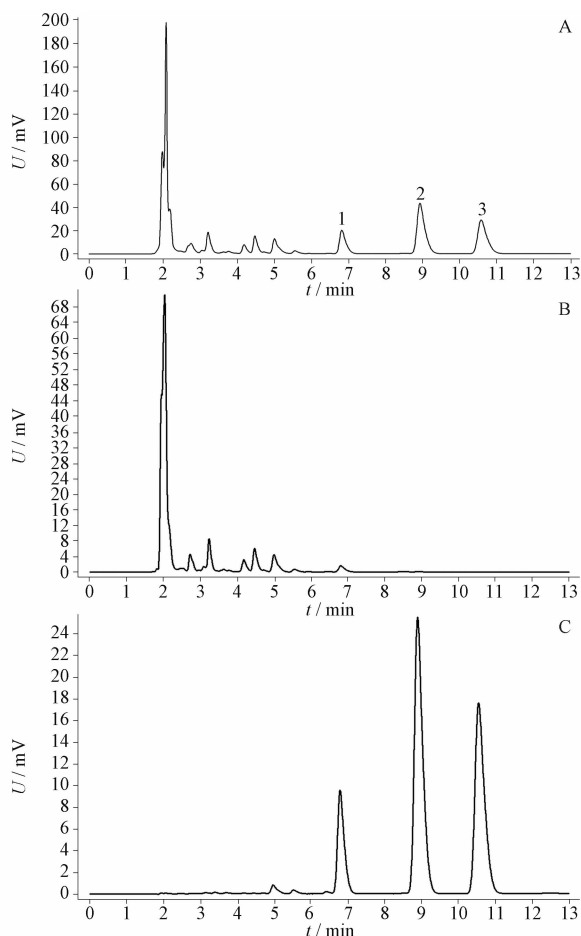


图2 蟾酥鲜浆样品(A)、29%清洗液样品(B)及95%洗脱液样品(C)色谱图

1 - 蟾毒灵; 2 - 华蟾酥毒基; 3 - 脂蟾毒配基。

Fig. 2 Chromatogram of Bufonis Venenum pulp sample (A), 29% cleaning solution sample (B), and 95% eluent sample (C)
1 - bufalin; 2 - cinobufotalin; 3 - lipobufotalin.

回归方程 $Y = 0.0125X + 0.0117$ ($R^2 = 0.9996$)。线性范围为 $15.015 \sim 65.065 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.6.2 精密度考察 取 $40.040 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的华蟾酥毒基对照品溶液 1 份, 用紫外分光光度计于波长 295 nm 下连续检测 6 次, 记录吸光度, 计算其 RSD%。结果 RSD% 为 0.05, 表明仪器的精密度良好。

2.6.3 重复性考察 按“2.2”项下方法, 制备 6 份样品(批号 202206-4), 于波长 295 nm 下检测, 含量分别为 4.32%、4.41%、4.32%、4.23%、4.34%、4.31%, RSD% 为 1.39, 说明该方法重复性高。

2.6.4 稳定性考察 取蟾酥鲜浆(批号 202206-4), 按“2.2”项下方法, 制备样品溶液, 于波长 295 nm 下在 0、1、4、8、12、24 h 下检测, 计算 RSD%, 结果 RSD% 小于 3%, 表明溶液在 24 h 内稳定。

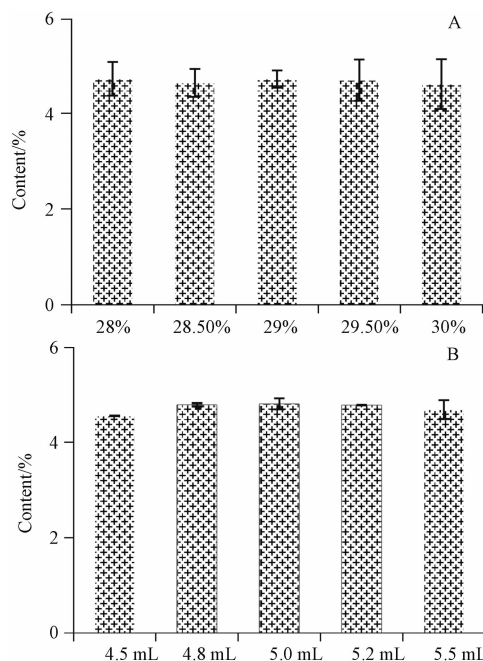


图3 清洗液浓度(A)及清洗液体积(B)优化

Fig. 3 Optimization of cleaning solution concentration (A) and volume (B)

2.6.5 准确度考察 取蟾酥鲜浆(批号 202206-4) 100 mg, 精密称定 6 份, 加入 12.5 mL 超纯水, 涡旋至均匀乳白色, 分别加入 $35.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾酥毒基对照品溶液 12.5 mL, 超声 30 min, 放冷, 按“2.2”项下供试品溶液制备方法制备, 于波长 295 nm 处检测吸光度, 结果见表 2。6 次回收率在 96.34% ~ 104.76% 之间, RSD% 为 3.93, 表明该方法较为准确可靠。

2.7 SPE-紫外法与药典法的对比实验

取三批蟾酥鲜浆采用本法检测含量及按传统工艺加工干燥制成蟾酥, 并按“2.3”项下 2020 版《中国药典》含量测定项方法检测含量, 以折干含量计, 结果见表 3, 对比两种方法检测结果的偏差, 结果偏差均小于 3%, 说明本蟾酥鲜浆快速检测方法准确可信, 可快速表征蟾酥鲜浆的质量。

2.8 样品检测

取不同产地蟾酥鲜浆样品, 每批平行 2 份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 测定吸光度值, 计算含量, 采用快速水分测定仪测定水分, 计算折干含量。结果见表 4。根据 2020 版《中国药典》中规定, 以蟾毒灵($\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_4$ 、华蟾酥毒基($\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_6$)和脂蟾毒配基($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4$)的总量不得少于 7.0%。202205-1、202206-3 及 202206-8 批次不合格, 其余批次均合格。

表2 准确度结果

Tab. 2 Accuracy results

No.)	Content of the sample/ μg	Adding amount/ μg	Total measured/ μg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
1	4 805. 47	4 377. 50	4 232. 53	96. 69	101. 34	3. 93
2	4 716. 89	4 377. 50	4 217. 11	96. 34		
3	4 623. 16	4 377. 50	4 426. 84	101. 13		
4	4 874. 83	4 377. 50	4 581. 17	104. 65		
5	4 916. 07	4 377. 50	4 585. 93	104. 76		
6	4 932. 94	4 377. 50	4 573. 06	104. 47		

表3 UV 检测及药典法检测结果对比($n=2$)Tab. 3 Comparison of UV detection and pharmacopoeia method detection results($n=2$)

Lot	UV content/%	HPLC content/%	Bias/%
202206-5	15. 89	15. 36	1. 70
2019080905	8. 34	8. 74	2. 34
201811502	11. 01	10. 82	0. 87

表4 不同产地蟾酥鲜浆含量($n=2$)Tab. 4 Content of Bufonis Venenum pulp from different regions ($n=2$)

Lot No.	Content/%	Water content/%	Dry content/%
202205-1	0. 34	61. 50	0. 88
202206-2	3. 52	69. 80	11. 66
202206-3	0. 95	68. 60	3. 03
202206-4	4. 58	61. 90	12. 02
202206-5	5. 32	66. 54	15. 89
202206-6	5. 70	55. 80	12. 90
202206-7	5. 40	63. 30	14. 71
202206-8	0. 94	56. 40	2. 16
2019080903	2. 93	69. 20	9. 51
2019080905	2. 87	65. 6	8. 34
2018111502	7. 81	52. 13	16. 32
2018080702	5. 55	56. 19	12. 67
2018080703	5. 12	58. 95	12. 47
201811502	3. 93	64. 29	11. 01
201811503	3. 81	67. 21	11. 62

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取华蟾酥毒基对照品溶液及供试品溶液,在210~400 nm 波长范围内进行光谱扫描,以95%乙醇为空白对照,确定最大吸收波长为295 nm。

3.2 不同SPE小柱的选择

分别考察了Oasis PRiME HLB-3cc/150 mg 及Sep-Pak Vac C₁₈-3cc/200 mg SPE小柱,最终选择Oasis PRiME HLB-3cc/150 mg,其除杂效果更佳,操

作简便,无需活化等。并对其不同批号(批号:018332335A、017632342A)进行了考察,其结果无显著性差异。

3.3 与药典法蟾酥供试品溶液制备方法对比

将本文供试品溶液制备方法与药典法蟾酥的样品制备方法对比,采用药典法制备,由于蟾酥鲜浆较黏稠,流动性差,与纯甲醇的互溶性差,蟾酥鲜浆提取过程中有结块,挂壁现象,提取不完全,提取含量较低。因此,蟾酥的药典法供试品溶液配制不适用于蟾酥鲜浆。

3.4 展望

截止2022年底,我国共计在注册存续蟾蜍养殖单位2 781家。山东、江苏、河南、安徽、江西、四川、甘肃、陕西、东北等地区逐步开始了中华大蟾蜍规模化养殖。目前,实际总养殖规模在2 000亩左右。随着养殖户的增加,为保证蟾酥的质量,一个简单、快速、成本低、准确、便于推广的蟾酥鲜浆快速检测方法对于养殖户是尤其重要的。本研究方法仅需使用SPE小柱纯化及紫外分光光度计检测,无需昂贵价值数十万、不宜搬动的高效液相色谱仪,成本低。现场检测时,SPE-UV法与HPLC法相比,仅需对农户简单培训SPE,无需SPE装置即可多人多个样品同时进行,鲜浆无需烘干,检测速度快,因此适合采购时在现场或无HPLC的实验室进行快速检测,及时监测蟾酥鲜浆的质量。

4 结论

本文采用SPE与UV结合的方法实现了对蟾酥鲜浆中蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的快速检测,通过与药典方法对比,验证了其方法可行性,并对该方法进行了方法学考察。结果显示,该方法重复性高、准确度高、精密度高、稳定性好,可用于蟾酥鲜浆中蟾毒灵、华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的快速检测。

Oasis PRiME HLB SPE小柱,无需活化、低溶剂

消耗,可以有效去除杂质。蟾酥鲜浆经纯化直接检测,无需加工烘干,大大加快了样品处理速度及检测速度。由样品处理需要大于两天的时间,缩短到2 h左右。该方法具有操作简便、快速、运行成本分低、在现场易于实现等优点。作为蟾酥药材中间体的质量控制,填补了蟾酥鲜浆快速检测方法的空白。

参考文献

- [1] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020:401.
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:401.
- [2] 吴喜燕,高慧敏,王智民. 蟾蜍类药材化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14):207.
WU XY, GAO HM, WANG ZM. Advances on chemical constituents in crude medicines from Toads[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2010, 16(14):207.
- [3] 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.
CHEN YL, HAO YY, GUO FJ, *et al.* Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of Bufonis Venenum[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(12):2579.
- [4] 赵强,孟凡静,刘安西. 蟾酥的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(10):附4.
ZHAO Q, MENG FJ, LIU AX. Advances in study on Venenum Bufonis[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2004, 35(10): Attachment4.
- [5] 金向群. 蟾蜍化学与药理作用的研究进展[J]. 中草药, 1996, 27(4):246.
JIN XQ. Research progress on the chemical and pharmacological effects of Bufonis Venenum[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 1996, 27(4):246.
- [6] 于垂亮. 蟾酥抗肿瘤有效成分的活性追踪分离及急性毒性研究[J]. 中草药, 2011, 42(2):307.
YU CL. Bioassay-guided separation and acute toxicity evaluation of antitumor ingredient in Bufonis Venenum[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2011, 42(2):307.
- [7] 曹飞,康小红,曹向军,等. 华蟾酥毒基诱导人骨肉瘤细胞 U-2OS 凋亡的实验研究[J]. 中医学报, 2015, 30(7):945.
CAO F, KANG XH, CAO XJ, *et al.* Experimental study of cinobufag in induced apoptosis of human osteosarcoma cell line U-2OS[J]. Acta Chin Med, 2015, 30(7):945.
- [8] 蒋洁君,周婧,马宏跃,等. 蟾酥对豚鼠心脏电生理的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(3):307.
JIANG JJ, ZHOU J, MAHY, *et al.* Toxic effect of Chansu on cardiac electrophysiology in guinea-pigs[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2011, 25(3):307.
- [9] 应金琴,杨明,张普照,等. 蟾酥的炮制历史沿革、化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(14):3529.
YING JQ, YANG M, ZHANG PZ, *et al.* Processing evolution, chemical components and pharmacological effects of Bufonis Venenum[J]. Chin J Chin Mater Med, 2021, 46(14):3529.
- [10] 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.
MEN JS, HE F, SUN CF, *et al.* Analysis of key influencing factors on the quality of Analysis of key influencing factors on the quality of Bufonis Venenum collection and initial processing process[J]. AP Tradit Med, 2018, 14(4):116.
- [11] 陈瀛澜,郭夫江,卞雪莲,等. 蟾酥干燥炮制前后化学成分和药效学变化考察[J]. 中草药, 2018, 49(8):1816.
CHEN YL, GUO FJ, BIAN XL, *et al.* Study on chemical constituents and pharmacodynamic changes of Bufonis Venenum with different drying methods[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(8):1816.
- [12] 陈蕾. 固相萃取技术在中药分析中的应用[J]. 中国药事, 2012, 26(2):159.
CHEN L. Application of solid-phase extraction technology in the analysis of traditional Chinese medicine[J]. Chin Pharm Aff, 2012, 26(2):159.
- [13] 赖宇红,陈浩桢. 固相萃取法在中药分析中的应用前景及其建立优化新方法的策略与步骤[J]. 广东药学, 2002, 12(2):12.
LAI YH, CHEN HA. The prospects of applying solid phase extraction to the analysis of traditional Chinese medicine and discussing the strategy and procedure of developing a new SPE method[J]. Guangdong Pharm, 2002, 12(2):12.
- [14] 汤道权,高媛媛,魏雅芹,等. 银杏叶提取物中四种黄酮类成分固相萃取技术优化[J]. 中药材, 2008, 31(6):3.
TAGNDQ, GAO YY, WEI YQ, *et al.* Optimization of solid phase extraction technology for four flavonoids in Ginkgo Leaves extract[J]. Chin Med Mat, 2008, 31(6):3.

(收稿日期:2024-03-18)