

## 蟾酥含量测定及特征图谱

SGLC-LC-183

**摘要：** 本文建立了蟾酥特征图谱及含量测定的 HPLC 方法。参照 2020 版《中国药典》蟾酥含量测定项下的色谱条件，采用色谱柱 Shim-pack VP-ODS (4.6×250mm, 5 $\mu$ m)，对蟾酥对照药材进行分析，结果显示以华蟾酥毒基为参照峰，蟾毒灵和脂蟾毒配基的相对保留时间均在规定值的 $\pm$ 5%范围内；特征图谱应出现的 5 个特征峰均有呈现，且峰形和重现性良好；且华蟾基毒素与相邻杂质能达到基线分离，满足药典要求。此方法可为蟾酥含量测定及特征图谱的测定提供参考。

**关键词：** 蟾酥 含量测定 特征图谱 Shim-pack VP-ODS HPLC

### 1. 实验部分

#### 1.1 实验仪器及耗材

Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪；

色谱柱：Shim-pack VP-ODS (4.6×250 mm, 5  $\mu$ m; P/N: 228-34937-92; S/N: 9052614);

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05)；

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

#### 1.2 参照物溶液的制备

取蟾酥对照药材 25 mg，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 20 mL，称定重量，加热回流 1 小时，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

#### 1.3 分析条件

色谱柱：Shim-pack VP-ODS (4.6×250 mm, 5  $\mu$ m; P/N: 227-34937-92; S/N: 9052614)

柱温：30 $^{\circ}$ C

检测波长：296 nm

流速：0.6 mL/min

进样量：10  $\mu$ L

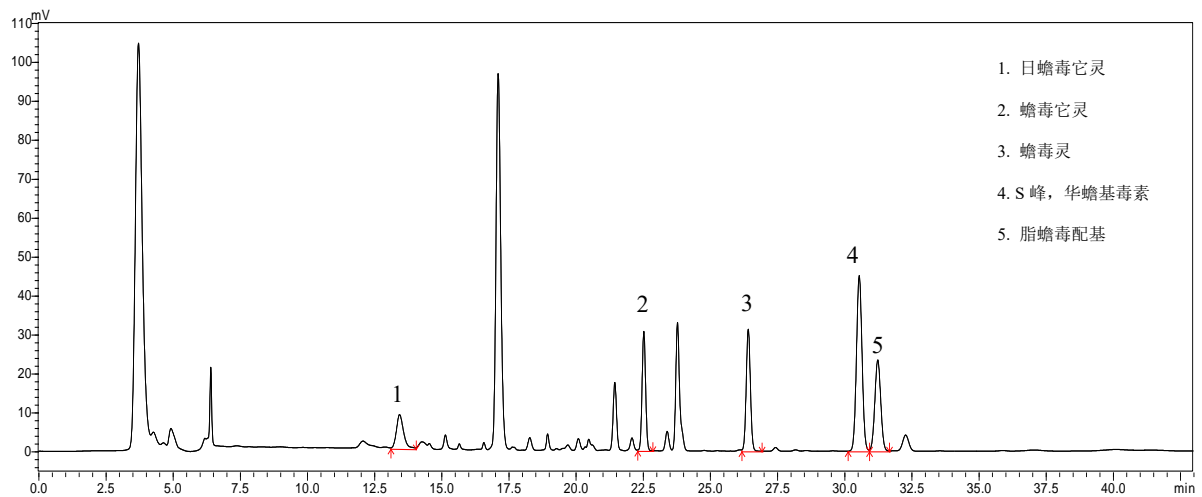
流动相：A：0.3%乙酸溶液      B：乙腈

| 时间 (Min) | 0  | 15 | 35 | 36 | 43 |
|----------|----|----|----|----|----|
| A (%)    | 72 | 46 | 46 | 72 | 72 |
| B (%)    | 28 | 54 | 54 | 28 | 28 |

## 2. 结果

按照上述色谱条件（1.3）进行采集，色谱图如下：

参照物溶液：



| 名称         | 保留时间   | 峰高    | 峰面积    | 理论板数   | 拖尾因子  | 分离度    | 相对保留时间 (S峰) | 相对保留时间规定值 | 差值 (%) |
|------------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|-------------|-----------|--------|
| 日蟾毒它灵      | 13.445 | 8780  | 152416 | 12602  | 1.368 | --     | --          | --        | --     |
| 蟾毒它灵       | 22.538 | 30634 | 280562 | 129759 | 1.068 | 24.934 | --          | --        | --     |
| 蟾毒灵        | 26.426 | 31329 | 341229 | 129060 | 1.065 | 14.281 | 0.865       | 0.873     | -1.03% |
| 华蟾基毒素 (S峰) | 30.556 | 45084 | 655115 | 98295  | 1.048 | 12.077 | 1.000       | 1.00      | -0.00% |
| 脂蟾毒配基      | 31.247 | 23437 | 360984 | 91475  | 1.041 | 1.719  | 1.022       | 1.05      | -2.67% |

### 重现性

| 目标物 | 保留时间 (min, n=3) |        |        |         | 面积 (Area, n=3) |        |        |         |
|-----|-----------------|--------|--------|---------|----------------|--------|--------|---------|
|     | 数据 1            | 数据 2   | 数据 3   | RSD (%) | 数据 1           | 数据 2   | 数据 3   | RSD (%) |
| 峰 1 | 13.445          | 13.441 | 13.436 | 0.03    | 152416         | 150459 | 150009 | 0.85    |
| 峰 2 | 22.538          | 22.535 | 22.529 | 0.02    | 280562         | 280694 | 280308 | 0.07    |
| 峰 3 | 26.426          | 26.423 | 26.414 | 0.02    | 341229         | 339955 | 340808 | 0.19    |
| 峰 4 | 30.556          | 30.553 | 30.541 | 0.03    | 655115         | 654159 | 654219 | 0.08    |
| 峰 5 | 31.247          | 31.243 | 31.231 | 0.03    | 360984         | 359457 | 360753 | 0.23    |

### 3. 结论

本文建立了蟾酥特征图谱及含量测定的 HPLC 方法。参照 2020 版《中国药典》蟾酥含量测定项下的色谱条件, 采用色谱柱 Shim-pack VP-ODS (4.6×250mm, 5 $\mu$ m), 对蟾酥对照药材进行分析, 结果显示以华蟾酥毒基为参照峰, 蟾毒灵和脂蟾毒配基的相对保留时间均在规定值的 $\pm 5\%$ 范围内; 特征图谱应出现的 5 个特征峰均有呈现, 且峰形和重现性良好。此方法可为蟾酥含量测定及特征图谱的测定提供参考。