

藏药诃子质量标志物诃黎勒酸的标准化分析研究

宋志博^{1,5}, 陈涛^{1,5}, 王肖波², 王岱杰³, 申诚¹, 王硕¹,
李洪梅^{1,5}, 海平⁴, 李玉林¹

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院西北生态环境资源研究院, 甘肃 兰州 730000; 3. 山东省分析测试中心, 山东 济南 250014; 4. 青海省药品检验检测院 国家药品监督管理局中药(藏药)质量控制重点实验室, 青海 西宁 810016; 5. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:以藏药诃子为原料, 研制诃黎勒酸国家标准样品。诃子经 60% 乙醇提取, 大孔树脂富集, 制备液相色谱技术得到诃黎勒酸标准品。采用高效液相色谱(HPLC)、液相色谱-质谱(LC-MS)和薄层色谱(TLC)等手段进行纯度分析。采用紫外光谱(UV)、红外光谱(IR)、高分辨质谱(MS)和核磁共振波谱(NMR)技术进行结构确认。最后进行均匀性、稳定性和联合定值。结果表明, 诃黎勒酸样品均匀性良好, 4℃ 储存, 24 个月内稳定。联合定值确定诃黎勒酸纯度标准值为 99.33%, 符合国家标准品的要求。研制出的诃黎勒酸(GSB 11-3724-2020)国家标准样品, 可用于含量测定、检测方法评定、相关产品的检测与质量控制。

关键词: 诃黎勒酸; 标准样品; 均匀性; 稳定性; 定值

中图分类号: TQ460.7⁺2

文献标志码: B

文章编号: 1006-3757(2023)02-0140-09

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2023.02.002

Standardization of Chebulagic Acid as Quality Marker of Tibetan Medicine *Terminalia Chebula*

SONG Zhibo^{1,5}, CHEN Tao^{1,5}, WANG Xiaobo², WANG Daijie³, SHEN Cheng¹, WANG Shuo¹,
LI Hongmei^{1,5}, HAI Ping⁴, LI Yulin¹

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. Northwest Institute of Eco-Environment and Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 3. Shandong Analysis and Test Center, Jinan 250014, China; 4. Qinghai Provincial Drug Inspection and Testing Institute, NMPA Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine and Tibetan Medicine, Xining 810016, China; 5. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: A certified reference material of chebulagic acid has been developed using a Tibetan medicine *Terminalia Chebula* as the raw material. *Terminalia Chebula* was extracted with 60% ethanol, enriched by the macroporous resin and

收稿日期: 2023-03-02; 修订日期: 2023-05-16.

基金项目: 青海省重点研发与转化计划: 藏药质量标志物发掘和标准化关键技术及应用示范 (2023-SF-112), 甘肃省青年科技基金计划 (20JR5RA542) [Key Research, Development and Transformation Plan of Qinghai Province: Key Technologies of the Exploration and Standardization of Quality Markers from Tibetan Medicine and Its Application Demonstration (2023-SF-112), Gansu Youth Science and Technology Fund Program (20JR5RA542)]

作者简介: 宋志博(1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 藏药物质基础和标准化研究, E-mail: 1522840147@qq.com

通信作者: 海平(1964-), 男, 研究员, 研究方向: 中藏药药理及质量控制研究, E-mail: qhgxshp@163.com; 李玉林(1970-), 男, 博士, 研究员, 《分析测试技术与仪器》编委, 研究方向: 藏药标准化与创新药物研究, E-mail: liyulin@nwipb.cas.cn.

through the preparative liquid chromatographic purification to obtain chebulagic acid. The purity analysis was carried out by high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and thin-layer chromatography (TLC). The structure was identified using ultraviolet (UV) spectroscopy, infrared (IR) spectroscopy, mass spectroscopy (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. Finally, the homogeneity, stability and cooperative certification were carried out. The results indicated that the chebulagic acid has a good uniformity and a fine stability within 24 months at 4 °C. The standard value of the purity of chebulagic acid was 99.33%, which was in accordance with the requirements of the certified reference material. The developed chebulagic acid (GSB 11-3 724-2020) can be used for the content determination, method evaluation, testing and quality control of related products.

Key words: chebulagic acid; reference material; homogeneity; stability; certification

标准样品是经过技术鉴定,附有有关性能数据证书的一批样品,可以用来校准仪器、评价测量方法、给材料赋值^[1-2]。天然产物标准样品的地位在中药现代化的发展中日益凸显,特别是在检测结果的准确性、溯源性和药材质量控制方面起着不可替代的作用^[3-6]。

藏药诃子是使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 干燥成熟果实,长圆形或卵圆形,表面黄棕色或暗棕色。诃子味苦、酸、涩,性平,归肺、大肠经,用于久泻久痢、便血脱肛、肺虚喘咳、久嗽不止、咽痛音哑等症状^[7]。诃子在藏药中具有重要地位,在卫生部药品标准藏药第一册(部颁标准)常用200则藏药方剂中,使用诃子入药的有125种,素有“藏药之王”的美称^[8]。诃子中化学成分十分丰富,主要包括鞣质类、酚酸类、三萜类、黄酮类、挥发油类、脂肪族类等^[9]。目前市售诃子的质量参差不齐,更是有伪品混杂其中,药典中对诃子的质量控制局限于性状、显微及薄层色谱鉴别,缺乏对质量标志性成分的含量测定。在诃子质量标志物预测研究报告中,经多个角度的预测分析表明诃黎勒酸是可能的质量标志物之一^[10],具有抗病毒、抗肿瘤、抗炎、抗菌等药理作用^[11-15]。目前,国内外还未研发出诃黎勒酸的国家标准样品。

本研究围绕诃子中的质量标志成分诃黎勒酸,参照标准样品工作导则,开展了标准化分析研究,成功研制了诃黎勒酸国家标准样品(GSB 11-3724-2020)(如图1所示)。

1 试验部分

1.1 仪器

本试验所用仪器信息如表1所列。

1.2 原料与试剂

诃子购自西宁市八一药材市场,由青海民族

大学热增才旦教授鉴定为使君子科植物诃子 (*Terminalia chebula* Retz.) 的成熟干燥果实。

高效液相色谱(HPLC)中所用甲醇、乙腈、乙酸均为色谱纯(武汉弗顿控股有限公司),水为实验室自制超纯水,其余试剂为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

取诃子果实10 kg,粉碎,60%乙醇溶液为提取溶剂,料液比1:10,超声提取1 h,过滤,滤液浓缩后冷冻干燥,得到粗提物。注入粗提物水溶液于D101大孔吸附树脂层析柱(20 cm×160 cm),静置吸附24 h后,先用大量30%乙醇溶液洗脱,边洗脱边用HPLC检测,直至洗脱液中无化合物,再用50%乙醇溶液洗脱,制备液相色谱对50%乙醇洗脱部位分离,得到诃黎勒酸标准样品。

样品经HPLC分析,色谱柱:Agela Innoval C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相:甲醇:0.5%乙酸水溶液。洗脱程序:0~30 min,45%~80%甲醇。流速:1.0 mL/min。柱温:30 °C。检测波长:274 nm。运行时间:30 min。

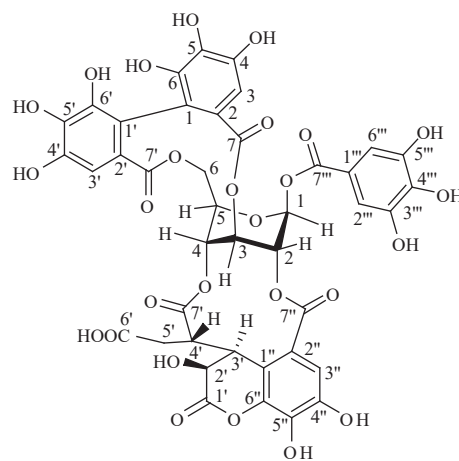


图1 诃黎勒酸的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of chebulagic acid

表 1 仪器型号
Table 1 Models of instruments

仪器名称	仪器型号	公司
液相色谱质谱仪	Agilent 6520 Q-TOF	美国安捷伦公司
高效液相色谱仪	Agilent 1260	美国安捷伦公司
大孔树脂纯化柱	50 L	浙江温兄机械阀业有限公司
循环超声提取仪	CTXNW-100B	北京弘祥隆生物技术股份有限公司
红外光谱仪	Vertex 70	德国布鲁克公司
核磁共振波谱仪	BRUKER 400 MHz	德国布鲁克公司
热重分析仪	SHIMADZU TG-40 DTA-40M	日本岛津公司
高效制备液相色谱仪	LC-8A岛津	日本岛津公司
冷冻干燥机	GLZ-1B	上海浦东冷冻干燥设备有限公司

制备液相分离条件, 色谱柱: Reprosil 100 C₁₈ (250 mm×20 mm, 10 μm). 流动相: 甲醇: 水(体积比为 45: 55). 流速: 18 mL/min. 检测波长: 281 nm.

1.3.2 纯度分析

(1)薄层色谱分析. 采用乙酸乙酯: 甲醇: 三氟乙酸(体积比为 5: 1: 0.01)和丙酮: 甲醇: 三氟乙酸(体积比为 4: 1.25: 0.01)两种展开体系进行检测分析, GF254 硅胶板, 梯度点样.

(2)HPLC 分析. 色谱柱: Agela Innoval C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm). 流动相: 乙腈: 0.5% 乙酸水溶液(体积比为 14: 86). 流速: 1.0 mL/min. 柱温: 30 °C. 检测波长: 200~400 nm. 运行时间: 30 min.

(3)液相色谱-质谱(LC-MS)分析. 色谱柱: Agela Innoval C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm). 流动相: 乙腈: 0.5% 乙酸水溶液(体积比为 10: 90). 流速: 1.0 mL/min. 运行时间: 30 min. 柱温: 30 °C. MS 条件: 电喷雾离子源(ESI). 毛细管电压 4.0 kV. 载气: N₂. 载气流速: 10 L/min. 载气温度: 550 °C. 扫描范围: *m/z* 为 50~1 500.

1.3.3 水分和灰分含量测定

依据 GB 606-2003《化学试剂水分测定通用方法卡尔·费休法》和文献 [16], 测定水分和灰分含量.

1.3.4 结构确证

通过紫外(UV)、红外(IR)、质谱(MS)、核磁共振波谱(NMR)技术对样品进行结构确认.

1.3.5 均匀性检验

技术依据: GB/T 15 000.3-2008 第 7 章^[17], 随机抽取 10 瓶样品, 分别将其按 1~10 编号, 按第一次编号顺序: 1-3-5-7-9-2-4-6-8-10; 第二次编号顺序:

10-9-8-7-6-5-4-3-2-1; 第三次编号顺序: 2-4-6-8-10-1-3-5-7-9 的程序分别从每瓶中称取 3 份 0.5 mg 样品, 经 HPLC 分析, 测定其纯度值. 采用方差分析法对采集的数据进行分析^[18-20].

瓶间方差 s^2 , 瓶间标准偏差 s_{bb} , 重复性标准偏差 s_r 分别使用式(1)~(3)计算:

$$s^2 = \frac{MS_{\text{among}} - MS_{\text{within}}}{n} \quad (1)$$

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{\text{among}} - MS_{\text{within}}}{n}} \quad (2)$$

$$s_r = \sqrt{MS_{\text{within}}} \quad (3)$$

均匀性检验的不确定度 $u_{bb}=s_{bb}$. 式中, MS_{within} 为瓶内均方差, MS_{among} 为瓶间均方差, n 为样品组数.

1.3.6 稳定性检验

(1)短期稳定性: 以 6 d 为期, 随机抽取 15 瓶已分装样品, 平均分成 5 组, 分别放置于-20、2~8、20、40、60 °C 保存. 对诃黎勒酸样品进行 HPLC 分析, 每份试样测定 2 次, 取其平均值为定值结果.

(2)长期稳定性: 以 2 年为期, 样品储存于 0~4 °C 条件下. 分别在第 0、6、12、18、24 月, 取样检测, 每份试样测定 5 次, 取平均值, 使用 t 检验对数据进行统计分析.

斜率 b_1 , 截距 b_0 , 直线上点的标准偏差 s^2 , 与斜率相关的不确定度 $s(b_1)$ 分别使用式(4)~(7)计算:

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (4)$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} \quad (5)$$

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - b_0 - b_1 X_i)^2}{n - 2} \quad (6)$$

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \quad (7)$$

子等于 3.182.

式中, n 为测量次数, X_i 为每次检测月数, Y_i 为每次测得的纯度(%), $\bar{X}$ 为月平均数, $\bar{Y}$ 为纯度平均数. 自由度为 $n-2$ 和 p 为 0.95(95% 置信水平)的分布 t 因子等于 3.182.

1.3.7 定值

如表 2 所列, 采用多个实验室进行协作定值, 随机抽取 24 瓶样品, 平均分配至每个实验室, 每瓶 HPLC 测定 2 次.

表 2 参加定值实验室及仪器型号

Table 2 Laboratories participated in calibration and models of instrument

序号	实验室名称	HPLC仪器型号
1	北京市理化分析测试中心	Shimadzu LC-20A
2	中国科学院新疆理化技术研究所	Waters e2695
3	山东大学化学与化工学院	Waters 2695
4	山东省科学院生物研究所	Agilent 1200
5	山东省中医药研究院	Waters e2695
6	山东蓝城分析测试有限公司	Agilent 1200
7	济南市出入境检验检疫局	Agilent 1260
8	山东省分析测试中心	Agilent 1260

测定总平均值 $\bar{x}$, 实验室内重复性标准偏差 s_r^2 , 实验室间再现性标准偏差 s_L^2 , 实验室总平均值的标准偏差 $s(\bar{x})$, 实验室总平均值的不确定度 $u(\bar{x})$ 分别使用式(8)~(12)计算:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}}{N} \quad (8)$$

$$s_r^2 = MS_{\text{within}} \quad (9)$$

$$s_L^2 = (MS_{\text{among}} - MS_{\text{within}})/n \quad (10)$$

$$s(\bar{x}) = \sqrt{s_L^2/p + s_r^2/np} \quad (11)$$

$$u(\bar{x}) = s(\bar{x}) \quad (12)$$

其中, m 为样品瓶数, n_i 为第 i 瓶测定的次数, x_{ij} 为某一次测定值, N 为测定总次数, p 为定值实验室数量, n 为单个实验室检测次数.

1.3.8 不确定度评价

标准样品定值不确定度 $u(\bar{x})$ 、均匀性不确定度 u_{bb} 、短期稳定性不确定度 u_{sts} 、长期稳定性不确定度 u_{lts} 、水分不确定度 $u_{\text{水}}$ 和灰分不确定度 $u_{\text{灰}}$ 组成了标准样品的总不确定度 u_{CRM} .

$u(\bar{x})$, u_{bb} , u_{sts} , u_{lts} 分别使用式(13)~(16)计算:

$$u(\bar{x}) = s(\bar{x}) \quad (13)$$

$$u_{bb} = s_{bb} = (MS_{\text{among}} - MS_{\text{within}})/n \quad (14)$$

$$u_{sts} = s(b_1)_{sts} \times t_{sts} \quad (15)$$

$$u_{lts} = s(b_1)_{lts} \times t_{lts} \quad (16)$$

式中: $s(b_1)_{sts}$ 、 $s(b_1)_{lts}$ 分别为短期、长期稳定性直线斜率的不确定度, t_{sts} 、 t_{lts} 分别为短期、长期稳定性有效时间.

$u_{\text{水}}$ 和 $u_{\text{灰}}$ 包括仪器产生的不确定度 u_1 和测量重复性产生的不确定度 u_2 . $u_{\text{水}}$ 和 $u_{\text{灰}}$ 由公式(17)计算, u_{CRM} 使用式(18)计算:

$$u_{\text{水}} = u_{\text{灰}} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} \quad (17)$$

$$u_{\text{CRM}} = 2 \sqrt{u(\bar{x})^2 + u_{bb}^2 + u_{lts}^2 + u_{sts}^2 + u_{\text{水}}^2 + u_{\text{灰}}^2} \quad (18)$$

2 结果与讨论

2.1 样品分离制备

诃黎勒酸富集组分的 HPLC 分析色谱图如图 2 所示.

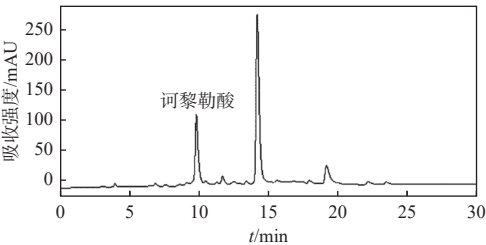


图 2 样品 HPLC 分析色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of sample

经计算, HPLC 分析时, 诃黎勒酸在甲醇质量分数为 55% 时被洗脱. 但制备液相以 55% 甲醇等度分离时, 化合物洗脱过快, 分离效果差. 如图 3 所示, 在甲醇质量分数为 45% 等度洗脱时, 取得了理想的分离效果.

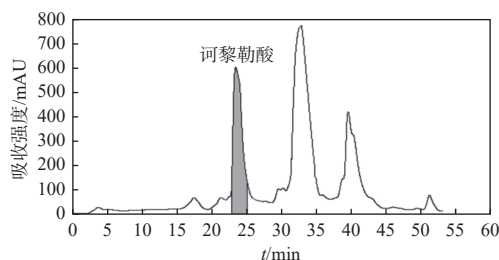


图 3 诃黎勒酸标准样品制备图

Fig. 3 Preparative chromatogram of standard sample of chebulagic acid

2.2 纯度分析

2.2.1 薄层色谱

由图 4 可见, 诃黎勒酸在不同展开剂下的薄层色谱图中呈现单一颜色斑点, 无明显杂质, 表明样品纯净. 图 4(a) 所用展开剂为乙酸乙酯: 甲醇: 三氟乙酸(体积比为 5:1:0.01), 图 4(b) 所用展开剂为丙酮: 甲醇: 三氟乙酸(体积比为 4:1.25:0.01).

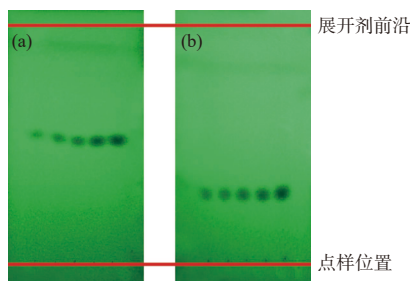


图 4 诃黎勒酸薄层色谱图

(a) 展开剂为乙酸乙酯: 甲醇: 三氟乙酸(体积比 5:1:0.01), (b) 展开剂为丙酮: 甲醇: 三氟乙酸(体积比 4:1.25:0.01)

Fig. 4 Thin layer chromatograms of chebulagic acid

2.2.2 HPLC 纯度分析

如图 5 所示, 样品三维色谱图中无明显杂峰, 样品纯度在 99% 以上.

2.2.3 LC-MS 纯度分析

如图 6 所示, LC-MS 总离子流图未见明显杂质峰存在.

2.3 水分和灰分含量测定

经测定, 诃黎勒酸标准样品中水分含量为

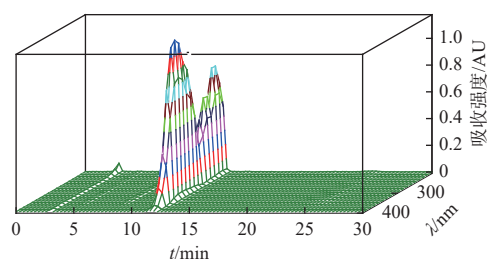


图 5 诃黎勒酸样品三维色谱图

Fig. 5 3D HPLC chromatogram of chebulagic acid

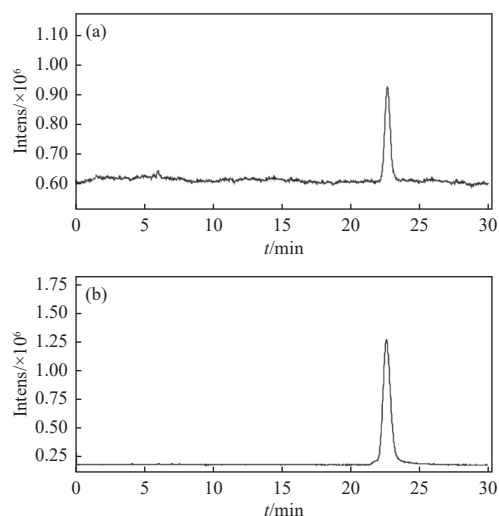


图 6 诃黎勒酸总离子流图

(a) 正离子模式, (b) 负离子模式

Fig. 6 Totals ionic diagrams of chebulagic acid

(a) positive ion mode, (b) anion mode

0.08%, 不确定度为 0.02%. 灰分含量为 0.09%, 不确定度为 0.02%.

2.4 结构确证

熔点: 242~243 °C. UV $\lambda_{\max}$ (EtOH): 281 nm. IR KBr $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3 324(ν_{O-H}), 1 700($\nu_{C=O}$), 1 609、1 531、1 446($\nu_{C=C}$), 1 314、1 163、1 020(ν_{C-O}). 正离子模式: $m/z=972.1301$ [$M+NH_4$]⁺, 负离子模式: $m/z=953.0907$ [$M-H$]⁻, 推测分子式为 C₄₁H₃₀O₂₇, 质谱图如图 7 所示. 诃黎勒酸样品溶于氘代甲醇 (MeOH-d₄) 中, 分别测定 ¹H NMR、¹³C NMR 图谱, 并对数据进行了归属, 结果如表 3、4 所列, 与文献报道^[21] 对比, 基本一致.

2.5 均匀性检验

2.5.1 趋势分析

以每瓶纯度平均值作为对应瓶序号的函数来研究样品制备中的趋势和分装过程的逻辑关系, 如图 8 所示, 证明样品制备中的趋势稳定, 分装均一,

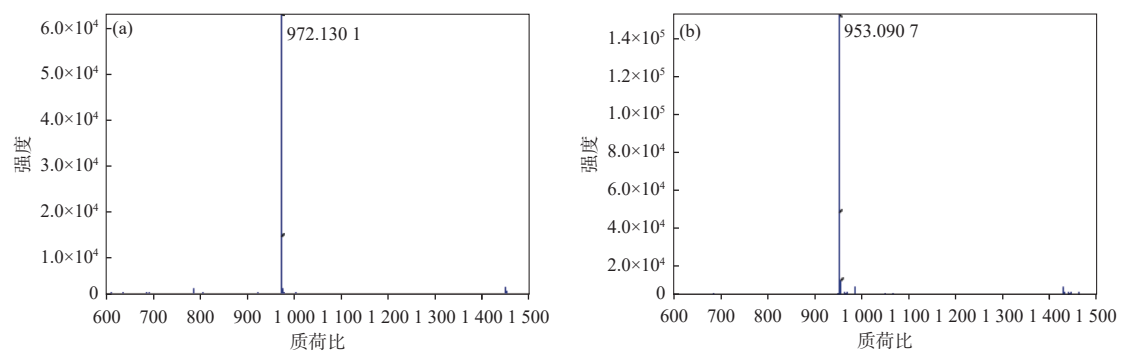


图 7 诃黎勒酸质谱图
(a) 正离子模式, (b) 负离子模式
Fig. 7 MS spectra of chebulagic acid
(a) positive ion mode, (b) anion mode

表 3 诃黎勒酸的核磁共振氢谱信号
Table 3 ¹H NMR data of chebulagic acid

化合物	位置	测定值(400 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	文献值(500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄) ^[21]
Glucose	1	6.50 (1H, s)	6.47 (1H, s)
	2	5.39 (1H, brs)	5.46 (1H, s)
	3	5.82 (1H, brs)	5.86 (1H, s)
	4	5.23 (1H, d, <i>J</i> = 3.0 Hz)	5.19 (1H, d, <i>J</i> =3.6 Hz)
	5	4.81 (1H, overlap)	4.80 (1H, t, <i>J</i> =17.4 Hz)
	6a	4.37 (1H, dd, <i>J</i> =10.2, 7.8 Hz)	4.38 (1H, dd, <i>J</i> =10.8, 8.0 Hz)
	6b	4.86 (1H, overlap)	4.70 (1H, t, 20.3 Hz)
Chebuloyl	2'	4.79 (1H, d, <i>J</i> =7.4 Hz)	4.84 (1H, d, <i>J</i> =7.2 Hz)
	3'	5.04 (1H, d, <i>J</i> =7.4, 1.2 Hz)	5.04 (1H, dd, <i>J</i> =7.3, 1.5 Hz)
	4'	3.80 (1H, m)	3.80 (1H, m)
	5'	2.15(2H, m)	2.11 (2H, d, <i>J</i> =4.5 Hz)
	2''	7.48 (1H, s)	7.46 (1H, s)
1- <i>O</i> -Galloyl-2,6		7.07 (2H, s)	7.11 (2H, s)
HHDP (3- <i>O</i> end)		6.84 (2H, s)	6.98 (2H, s)
HHDP (6- <i>O</i> end)		6.63 (2H, s)	6.62 (2H, s)

数据稳定.

2.5.2 方差分析

由表 5、6 可见, 以 v_1 (即组间)为 9 及 v_2 (即组内)为 20 查 F 界值表, 得 $F_{0.05}(9, 20)$ 为 2.39, 由于 $F=1.49<F_{0.05}(9, 20)$, 所以本样品是均匀的, 经计算, 均匀性不确定度为 0.02%.

2.6 稳定性分析

2.6.1 短期稳定性检验

如表 7 所列, 诃黎勒酸样品的平均纯度为 99.39%, 符合要求.

2.6.2 长期稳定性检验

由表 8 数据可得, 诃黎勒酸每次测得的平均值

表 6 均匀性研究的方差分析表
Table 6 Variance analysis of homogeneity test

变差源	方差和(SS)	自由度	均方差(MS)
瓶间	0.002 1	9	0.000 24
瓶内	0.003 2	20	0.000 16
总和	0.005 3	29	

表 7 短期稳定性检验试验结果
Table 7 Data of short-term stability test

温度/℃	平均值/%	标准偏差/%	不确定度/%
-20	99.37	0.02	
2~8	99.42	0.02	
20	99.44	0.02	0.04
40	99.39	0.02	
60	99.34	0.02	

表 8 长期稳定性检验数据
Table 8 Data of long-term stability test

时间/月	平均值/%	标准偏差/%	不确定度/%
0	99.45	0.02	
6	99.39	0.03	
12	99.42	0.03	0.24
18	99.35	0.02	
24	99.38	0.02	

表 9 诃黎勒酸定值结果统计分析表
Table 9 Statistical analysis of certified value of
chebulagic acid

	/%							
实验室序号	1	2	3	4	5	6	7	8
平均值	99.60	99.58	99.57	99.52	99.45	99.47	99.44	99.39
标准偏差	0.09	0.04	0.06	0.04	0.06	0.02	0.04	0.05
$\bar{x}$					99.50			
S_r					0.05			
S_L					0.08			
$s(\bar{x})$					0.03			

表 10 不确定度
Table 10 Table of uncertainty

样品名称	不确定度							
	定值	均匀性	短期稳定性	长期稳定性	水分	灰分	合成	扩展
诃黎勒酸	0.03	0.02	0.04	0.24	0.02	0.02	0.25	0.50

勒酸标准品可为其相关产品的开发、含量测定、生物活性和药理作用的研究等工作提供了物质基础,保证检测结果的准确定、可比性和溯源性。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. 标准样品工作导则 第2部分: 常用术语及定义: GB/T 15000.2—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.

[2] 耿岩玲, 林云良, 王岱杰, 等. 人参皂苷Re标准样品的研制[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(4): 993-997. [GENG Yanling, LIN Yunliang, WANG Daijie, et al. Preparation of ginsenoside Re certified reference materials[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2020, 31 (4): 993-997.]

[3] 王硕, 陈涛, 王岱杰, 等. 大麦黄芩和皂草黄芩标准样品的制备与标准化研究[J]. 分析实验室, 2023, 42(1): 38-44. [WANG Shuo, CHEN Tao, WANG

Daijie, et al. Research of preparation and standardization of lutonarin and saponarin standard samples[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2023, 42 (1): 38-44.]

[4] 王岱杰, 林云良, 耿岩玲, 等. 厚朴酚标准样品的研制[J/OL]. 天然产物研究与开发: 1-11. [WANG Daijie, LIN Yunliang, GENG Yanling, et al. Preparation of certified reference materials of magnolol[J/OL]. Natural Product Research and Development: 1-11.]

[5] 王岱杰, 于金倩, 崔莉, 等. 熊果酸标准样品的研制[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(22): 79-85. [WANG Daijie, YU Jinqian, CUI Li, et al. Preparation of certified reference materials of ursolic acid[J]. Food Research and Development, 2018, 39 (22): 79-85.]

[6] 宋志博, 陈涛, 王岱杰, 等. 藏药诃子质量标志物诃子酸的分离分析及标准化研究[J]. 分析测试技术与仪器, 2021, 27(3): 165-173. [SONG Zhibo, CHEN

- Tao, WANG Daijie, et al. Separation and standardization of chebulinic acid as quality marker of tibetan medicine terminalia chebula[J]. *Analysis and Testing Technology and Instruments*, 2021, 27 (3): 165-173.]
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部2020年版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 194.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 药品标准·藏药(第一册)[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1995.
- [9] 周坤, 简平, 梁文仪, 等. 基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS分析藏药诃子与毛诃子化学成分[J]. 质谱学报, 2020, 41(3): 254-267. [ZHOU Kun, JI-AN Ping, LIANG Wenyi, et al. Analysis on chemical constituents from terminalia chebula Retz. and terminalia bellerica (gaertn.) roxb by UPLC-Q-exactive quadrupole-orbitrap mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2020, 41 (3): 254-267.]
- [10] 赵鹿, 廖翠萍, 杨秀娟, 等. 诃子的研究进展及质量标志物的预测[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2732-2744. [ZHAO Lu, LIAO Cuiping, YANG Xiujuan, et al. Research progress in Terminalia chebula and its predictive analysis on Q-marker[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51 (10): 2732-2744.]
- [11] Yang Y J, Xiu J H, Liu J N, et al. Chebulagic acid, a hydrolyzable tannin, exhibited antiviral activity in vitro and in vivo against human enterovirus 71[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14 (5): 9618-9627.
- [12] Li P, Du R K, Wang Y Y, et al. Identification of chebulinic acid and chebulagic acid as novel influenza viral neuraminidase inhibitors[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11 : 182.
- [13] Vijaya P, Ketayun D, Debjani D. Novel antipropionibacterium activity of embelin and chebulagic acid on screening of Indian medicinal plants[J]. *International Research Journal of Pharmacy*, 2017, 8 (5): 45-52.
- [14] Athira A P, Abhinand C S, Saja K, et al. Anti-angiogenic effect of chebulagic acid involves inhibition of the VEGFR2- and GSK-3 β -dependent signaling pathways[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 2017, 95 (5): 563-570.
- [15] Reddy D B, Reddanna P. Chebulagic acid (CA) attenuates LPS-induced inflammation by suppressing NF- κ B and MAPK activation in RAW 264 7 macrophages[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 381 (1): 112-117.
- [16] 段微微, 唐恩柱. 热重分析仪在钨碳催化剂灰分测定的应用[J]. *天津化工*, 2009, 23(1): 58-59. [DUAN Weiwei, TANG Enzhu. The application of TGA in testing the ash of Pol carbon catalyst[J]. *Tianjin Chemical Industry*, 2009, 23 (1): 58-59.]
- [17] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 标准样品工作导则(3) 标准样品 定值的一般原则和统计方法: GB/T 15000.3—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [18] 陈静娴, 王岱杰, 周晓晶, 等. 二氢辣椒碱标准样品的研制[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(15): 82-86. [CHEN Jingxian, WANG Daijie ZHOU Xiaojing, et al. Preparation of Certified Reference Materials of Dihydrocapsaicin[J]. *Food Research And Development*, 2015, 36 (15): 82-86.]
- [19] 申诚, 陈涛, 王岱杰, 等. 维菊叶龙胆酮快速制备与标准化分析[J]. *分析实验室*, 2021, 40(8): 905-910. [SHEN Chen, CHEN Tao, WANG Daijie, et al. Rapid preparation and standardization analysis of Bellidifolin[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2021, 40 (8): 905-910.]
- [20] 宁凡盛, 路岩翔, 曹桂云, 等. 银杏内酯C标准样品的研制[J]. *山东科学*, 2022, 35(2): 18-28. [NING Fan-sheng, LU Yanxiang, CAO Guiyun, et al. Preparation of certified reference material of Ginkgolides C[J]. *Shandong Science*, 2022, 35 (2): 18-28.]
- [21] Gunawan-Puteri M D P T, Kawabata J. Novel α -glucosidase inhibitors from *Macaranga tanarius* leaves[J]. *Food Chemistry*, 2010, 123 (2): 384-389.