

· 药学基础 ·

## 岩藻甾醇标准样品的研制

晋文慧<sup>1,2</sup>, 张怡评<sup>1</sup>, 陈伟珠<sup>1</sup>, 方华<sup>1</sup>, 洪专<sup>1</sup>, 巢志茂<sup>3\*</sup>

(1. 自然资源部第三海洋研究所,

自然资源部海洋生物资源开发利用工程技术创新中心, 福建 厦门 361005;

2. 华侨大学化工学院, 福建 厦门 361021; 3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:根据 GB/T 15000.3—2008《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》,经国家标准化管理委员会批准立项,研制岩藻甾醇标准样品。方法:选择海带为原料,通过95%乙醇提取、减压浓缩、反复柱色谱分离、石油醚-乙酸乙酯重结晶、残余溶剂去除等制备和纯化过程,获得高纯度岩藻甾醇单体,采用元素分析、红外光谱、质谱、核磁共振和X射线衍射等技术对其进行结构鉴定。运用高效液相色谱-蒸发光散射检测法进行均匀性检验、稳定性检验和8家实验室联合定值检验。结果:该样品在95%置信区间的样品均匀性良好,在2~4℃条件下24个月内稳定性良好,定值测定结果确定其纯度99.54%,扩展不确定度0.16%,达到了国家标准样品的技术要求,通过了国家标准化管理委员会组织的验收。结论:成功研制了岩藻甾醇国家标准样品,该样品可用于岩藻甾醇含量测定、检测方法评定、相关产品的检测与质量控制。

**[关键词]** 岩藻甾醇; 标准样品; 均匀性; 稳定性; 定值; 海带; 高效液相色谱法(HPLC)

**[中图分类号]** R22;R28;R914;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)24-0131-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211771

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210709.1055.001.html>

**[网络出版日期]** 2021-07-09 11:53

## Development of Fucosterol Certified Reference Material

JIN Wen-hui<sup>1,2</sup>, ZHANG Yi-ping<sup>1</sup>, CHEN Wei-zhu<sup>1</sup>, FANG Hua<sup>1</sup>, HONG Zhuan<sup>1</sup>, CHAO Zhi-mao<sup>3\*</sup>

(1. *Technology Innovation Center for Exploitation and Utilization of Marine Biological Resources,*

*Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, China;*

*2. School of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;*

*3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)*

**[Abstract]** **Objective:** According to the GB/T 15000.3-2008, to develop a fucosterol certified reference material based on the project approved by Standardization Administration. **Method:** Fucosterol was isolated from *Laminaria japonica* dried thallus via 95% ethanol extraction, vacuum concentration, repeated column chromatography separation, recrystallization in petroleum ether-ethyl acetate, and residual solvent removal. Its chemical structure was identified by elemental analysis (EA), infrared spectrum (IR), mass spectrometry (MS), nuclear magnetic resonance (NMR) and X-ray diffraction (XRD). Its homogeneity, stability, and cooperative certification conducted by 8 laboratories were carried out by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detector. **Result:** For the fucosterol reference material, the certified value of purity was 99.54% with expanded uncertainty of 0.16% in confidence interval of 95%, the stability was good within 24 months storage period at 2-4℃, which met the technical requirements of reference

**[收稿日期]** 20210513(020)

**[基金项目]** 福建省科技计划项目(2020N0027);国家重点研发计划项目(2016YFF0201104)

**[第一作者]** 晋文慧,在读博士,助理研究员,从事天然产物国家标准样品的研制,E-mail:whjin@tio.org.cn

**[通信作者]** \*巢志茂,研究员,从事天然产物国家标准样品的研制,E-mail:chaozhimao@163.com

material and passed the acceptance organized by Standardization Administration. **Conclusion:** The national standard materials of fucosterol has been successfully developed, which can be used for the determination of this component, the evaluation of detection methods, and the detection and quality control of related products.

**[Keywords]** fucosterol; certified reference material; homogeneity; stability; certification; *Laminaria japonica* dried thallus; high performance liquid chromatography (HPLC)

昆布始载于《名医别录》，具有消痰软坚散结、利水消肿的功效，临床用于治疗瘰疬、瘰疬、睾丸肿痛、痰饮水肿，是一种具有悠久用药历史的海洋来源中药。海洋中药是在中医药理论指导下应用的海洋药物资源，是传统中药的重要组成部分<sup>[1]</sup>。昆布在历代古籍中均有记载，如《嘉佑本草》记载昆布能去瘰疬行水、下气化痰，是中医药抗癌配方中1味重要的药物<sup>[2]</sup>。据报道，昆布含有多糖、类胡萝卜素、纤维素、多酚等活性成分，具有调节免疫、抗肿瘤、调节血脂及血糖、抗氧化、抗辐射等活性<sup>[3-5]</sup>。岩藻甾醇是大量存在于海带中的一种植物甾醇，也广泛存在于马尾藻、羊栖菜等多种海藻中<sup>[6-9]</sup>，具有保持生物内环境稳定、控制糖原和矿物质代谢、调节应激反应、防治癌症、抗氧化、明显降低血液中胆固醇等生理功能<sup>[10-12]</sup>。同时，岩藻甾醇可作为合成激素和药物的原料，如雌激素、雄激素、氢化可的松等，调节人的生长、生殖、发育，并具有消炎、止痛等功效<sup>[13-14]</sup>。总之，岩藻甾醇作为海带中重要的生物活性成分，广泛应用于医药、食品、化工等领域，常作为相关产品质量控制的重要指标性成分。

目前市场上含岩藻甾醇的产品均需要以岩藻甾醇作为检测标准，但迄今为止，由于技术难度的限制，我国尚未研制出岩藻甾醇国家标准样品。相关企业、检测机构和科研院所基本采用的是进口高纯试剂，价格昂贵、购买周期长、测试使用多有不便，且纯度参差不齐，没有进行过定值检验，也没有不确定度的数据评价，准确性、可比性、可溯源性均不能得到保证<sup>[15-17]</sup>。因此，以国内较大的市场需求为导向，国家标准化委员会批准了岩藻甾醇国家标准样品的研制。开展岩藻甾醇标准样品的研制，不仅可填补该标样产品在国内的空白，也可为检测研究和医药研究等领域提供有力的基础保障。鉴于此，本研究拟选择海带为原料，通过提取、反复柱色谱分离、重结晶、去除残余溶剂等制备和纯化过程，获得高纯岩藻甾醇单体，按照现行国家标准 GB/T 15000.3—2008<sup>[18]</sup>要求，系统开展标准样品的研制工作，以提供获证岩藻甾醇国家标准样品。

## 1 材料

e2695型高效液相色谱仪(美国 Waters, 配有蒸发光散射检测器), Vario EL cube型元素分析仪(德国 Elementar 公司), VERTEX 70型红外光谱仪和 Avance II 400 M型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司), LTQ Orbitrap Velos Pro型质谱仪(美国 Thermo 公司), Gemini E型 X-单晶衍射仪(美国 Agilent), ME55型 1/10万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); SXJQ-1型电子数显恒速搅拌器, MP-201Z型隔膜真空泵, R-1001-VN型旋转蒸发器及 DLSB-10/20型低温冷却循环泵(郑州长城科工贸有限公司)。

60~90℃沸程石油醚(国药集团化学试剂有限公司, 批号 190809), 硅胶(烟台江友硅胶开发有限公司, 100~200目, 180℃烘干 4 h), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 干燥的海带购自厦门农贸市场, 产自漳州, 经福建中医药大学黄鸣清教授鉴定为海带 *Laminaria japonica* 的干燥叶状体, 样品保存于自然资源部第三海洋研究所实验室。

## 2 方法与结果

**2.1 样品的制备** 干燥的海带经粉碎, 过 40 目筛, 即得海带干粉。称取海带干粉 2 kg 放入反应釜中, 加入 95% 乙醇 80 L, 浸提 48 h, 重复 3 次, 合并提取液, 在旋转蒸发器上 60℃减压浓缩成稠膏状粗提物 70 g。将粗提物加乙酸乙酯 300 mL 使溶解后加入硅胶 210 g, 拌匀, 旋转蒸发浓缩后进行硅胶柱色谱分离, 依次用石油醚-乙酸乙酯(10:1, 8:1, 5:1, 2:1) 各 3 个柱体积梯度洗脱, 分别减压浓缩, 于石油醚-乙酸乙酯(8:1, 5:1) 洗脱部分析出白色细毛状晶体, 过滤收集白色晶体, 得到纯度约 90% 的岩藻甾醇样品。再经石油醚-乙酸乙酯(5:1) 重结晶, 最终获得高纯晶体, 经鉴定为岩藻甾醇。

## 2.2 结构鉴定

**2.2.1 元素分析** 元素分析仪采集参数为左炉 950℃(逐步升温, 从 400℃升至 600℃, 再到 800℃, 最后稳定在 950℃), 柱箱 65℃, 载气流速 140 mL·min<sup>-1</sup>, 参考气流速 100 mL·min<sup>-1</sup>, 吹扫进样口, 进样延迟 12 s, 氧气流速 250 mL·min<sup>-1</sup>, 注入 5 s。岩藻甾醇分子式为 C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O, 元素 C 和 H 的理论值分



表1 岩藻甾醇的核磁共振数据

Table 1 NMR data of fucosterol

No.	$\delta_c$	DEPT	$\delta_H$	COSY	HSQC(C→H)	部分HMBC(C→H)
1	37.30	CH <sub>2</sub>	1.82, m, 1H; 1.07, m, 1H	1.50, 1.07; 1.82, 1.50	1.82, 1.07	-
2	31.70	CH <sub>2</sub>	1.50, m, 2H	3.53, 1.82, 1.07	1.50	-
3	71.80	CH	3.53, m, 1H	2.28, 1.50	3.53	-
4	42.30	CH <sub>2</sub>	2.28, m, 2H	3.53	2.28	5.35
5	140.80	C	-	-	-	2.28, 1.01
6	121.70	CH	5.35, d, 5.2 Hz, 1H	1.95	5.35	2.28
7	31.92	CH <sub>2</sub>	1.95, m, 2H	5.35, 2, 02	1.95	5.35
8	31.91	CH	2.00, m, 1H	1.95, 0.91	2.00	-
9	50.10	CH	0.91, m, 1H	2.00	0.91	-
10	36.50	C	-	-	-	5.35, 2.28, 1.82, 1.07, 1.01, 0.91
11	21.10	CH <sub>2</sub>	1.48, m, 2H	2.03, 1.17	1.48	-
12	39.80	CH <sub>2</sub>	2.03, m, 1H 1.17, m, 1H	1.48, 1.17 2.03, 1.48	2.03, 1.17	0.69
13	42.40	C	-	-	-	0.69
14	55.80	CH	1.10, m, 1H	1.55, 1.00	1.10	0.69
15	24.30	CH <sub>2</sub>	1.55, m, 1H 1.00, m, 1H	1.84, 1.29, 1, 12, 1.00 1.84, 1.55, 1.29, 1.10	1.55, 1.00	-
16	28.20	CH <sub>2</sub>	1.84, m, 1H 1.29, m, 1H	1.55, 1.29, 1.04, 1.00 1.84, 1.55, 1.04, 1.00	1.84, 1.29	-
17	56.80	CH	1.04, m, 1H	1.84, 1.41, 1.29	1.04	0.69
18	11.90	CH <sub>3</sub>	0.69, s, 3H	-	0.69	0.69
19	19.40	CH <sub>3</sub>	1.01, s, 3H	-	1.01	-
20	36.40	CH	1.41, m, 1H	1.41, 1.08, 1.04, 1.01	1.41	-
21	18.80	CH <sub>3</sub>	1.01, d, 6.4 Hz, 3H	1.41	1.01	-
22	35.20	CH <sub>2</sub>	1.41, m, 1H 1.08, m, 1H	2.06, 1.89, 1.08, 1.01 2.06, 1.89, 1.41 1.01	1.41, 1.08	-
23	25.70	CH <sub>2</sub>	2.06, m, 1H 1.89, m, 1H	1.41, 1.89, 1.08 2.06, 1.41, 1.08	2.06, 1.89	-
24	147.00	C	-	-	-	2.20, 2.06, 1.89, 1.59, 0.980, 0.978
25	34.80	CH	2.20, m, 1H	0.980, 0.978	2.20	5.18
26	22.20	CH <sub>3</sub>	0.980, d, 6.8 Hz, 3H	2.20, 0.978	0.980	-
27	22.10	CH <sub>3</sub>	0.978, d, 6.8 Hz, 3H	2.20, 0.978	0.978	-
28	115.60	CH	5.18, q, 6.8 Hz, 1H	1.59	5.18	2.06, 1.89, 1.59
29	13.20	CH <sub>3</sub>	1.59, d, 6.8 Hz, 3H	5.18	1.59	-

注: d. 双峰; m. 多重峰; q. 四重峰; s. 单峰。

$10^{-6}$ 。式中  $X_i$  为每次检测时间(月数);  $\bar{X}=12$ , 即每次检测间隔的时间总月数(0+6+12+18+24=60个月)与间隔检测的次数(5次)之比;  $Y_i$  为每次测得的纯度(%);  $\bar{Y}=99.59\%$ , 即5次检测纯度的平均值;  $i$  表示测量次数, 取值 1, 2, 3, 4, 5。截距  $b_0$  计算公式为  $b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} = 99.59\% - (-6.67 \times 10^{-6} \times 12) = 99.60\%$ 。直线

上的点的标准偏差( $s$ )计算参照公式(2), 即  $s^2 = 1.96 \times 10^{-7} / 3 = 6.53 \times 10^{-8}$ , 取平方根  $s = 2.556 \times 10^{-4}$ ; 与斜率相关的不确定度  $s(b_1)$  计算参照公式(3), 即  $s(b_1) = 2.556 \times 10^{-4} / \sqrt{360} = 1.347 \times 10^{-5}$ 。自由度为  $n-2$  和  $P=0.95$  (设置 95% 置信水平) 的分布  $t$  因子等于 3.182。因  $|b_1| < t_{0.95, n-2} \times s(b_1) = 3.182 \times 1.347 \times 10^{-5} = 4.286 \times 10^{-5}$ , 故

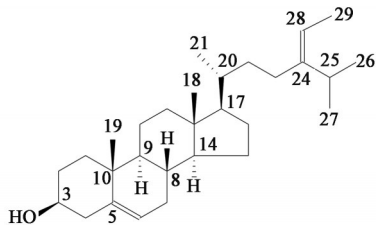
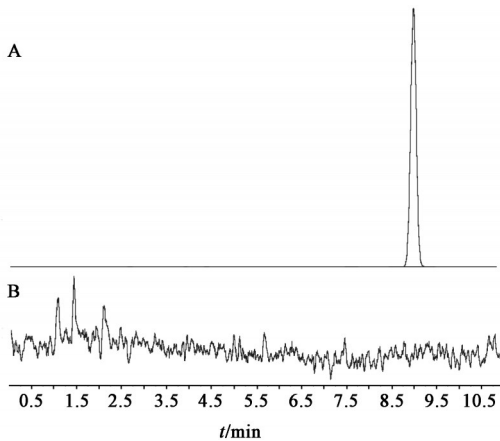


图2 岩藻甾醇结构式

Fig. 2 Structural formula of fucosterol



A. 岩藻甾醇; B. 空白溶剂甲醇

图3 岩藻甾醇的HPLC

Fig. 3 HPLC of fucosterol

表2 岩藻甾醇标准样品的均匀性检验

Table 2 Homogeneity test of fucosterol certified reference material %

样品编号	测量1	测量2	测量3	平均值
18	99.62	99.55	99.57	99.58
21	99.55	99.59	99.61	99.58
35	99.63	99.58	99.59	99.60
40	99.58	99.56	99.61	99.58
86	99.61	99.56	99.58	99.58
99	99.58	99.58	99.64	99.60
117	99.59	99.61	99.58	99.59
120	99.56	99.62	99.60	99.59
123	99.62	99.61	99.64	99.62
124	99.58	99.62	99.62	99.61
141	99.59	99.57	99.57	99.58
154	99.58	99.62	99.59	99.60
155	99.59	99.63	99.64	99.62
173	99.58	99.56	99.56	99.57
196	99.58	99.62	99.64	99.61

斜率是不显著的,故未观测到不稳定性,表明岩藻甾醇在24个月检验周期内稳定性良好。长期稳定性检验的不确定度( $U_{\text{lis}}$ )计算公式为 $U_{\text{lis}}=s(b_1) \times t$ , $t$ 为检验时间月数。将相应的数据代入公式计算,即

表3 岩藻甾醇标准样品均匀性检验的方差分析

Table 3 Variance analysis of homogeneity test of fucosterol certified reference material

方差来源	SS	f	MS
组间	0.344 964	14	0.024 640
组内	0.632 667	30	0.021 089
总和	0.977 631	44	

$U_{\text{lis}}=s(b_1) \times t=1.347 \times 10^{-5} \times 24=0.04\%$  (直接进一位取值)。以上直线模型分析结果表明,岩藻甾醇标准样品在低温密闭环境下保存24个月稳定性良好,即在实际保藏条件(温度2~4 °C)下,岩藻甾醇的稳定期不低于2年。

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

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

$$s(b_1) = s / \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (3)$$

**2.7.2 短期稳定性** 为考察样品在运输过程中的稳定性,模拟运输条件,测定运输条件下(25 °C)6 d内的稳定性。分别于第0,2,4,6天进行检测,采用峰面积归一化法测定样品配制后的稳定性,结果样品纯度分别为99.56%,99.62%,99.57%,99.59%,说明样品在模拟运输条件下6 d内仍保持稳定。

**2.8 定值分析** 根据GB/T 15000.3—2008<sup>[18]</sup>规定并结合实际条件,采用多家实验室协作检验定值的方式进行岩藻甾醇标准样品的定值分析,确定参加定值分析的实验室为8家,每家均随机抽取2瓶样品送检,按2.3项下色谱条件每瓶重复测定3次,用峰面积归一化法进行定量<sup>[21]</sup>,对8家实验室的6个数据进行统计。见表4。

表4 8家实验室的岩藻甾醇纯度定值数据

Table 4 Certification data of fucosterol purity from eight laboratories %

实验室	纯度						平均值	RSD
	1	2	3	4	5	6		
1	99.52	99.52	99.54	99.55	99.56	99.56	99.54	0.02
2	99.48	99.49	99.56	99.64	99.64	99.65	99.58	0.08
3	99.51	99.53	99.54	99.57	99.60	99.61	99.56	0.04
4	99.64	99.70	99.73	99.76	99.80	99.84	99.75	0.07
5	99.47	99.48	99.49	99.50	99.50	99.52	99.49	0.02
6	99.49	99.52	99.53	99.54	99.58	99.59	99.54	0.04
7	99.23	99.24	99.24	99.26	99.28	99.29	99.26	0.02
8	99.59	99.60	99.61	99.62	99.62	99.63	99.61	0.01

汇集8家实验室的测定结果,采用Grubb's检验法进行检验,未发现异常值,测定结果呈正态分布。通过以上对检验数据的考察,所得数据符合GB/T 15000.3—2008<sup>[18]</sup>的要求。采用峰度法检验各实验室数据的正态性,没有检出异常值。说明各组数据全部有效,故利用Grubb's检验法对每家实验室的平均值进行检验,将其看成1组测定值进行异常值检验,实验室间的Grubb's统计量残差与标准差的比值 $G$ 均小于 $G'_{0.95(6)}$ ( $P=0.95$ ,测量数为6次的临界值)和 $G'_{0.99(6)}$ ( $P=0.99$ ,测量数为6次的临界值),因此将各家实验室测得数据作为无偏估计值,计算8家测定结果的平均值及标准偏差。通过统计分析,标准样品纯度的总平均值99.54%。对表4中数据进行方差分析,见表5。

表5 8家实验室岩藻甾醇纯度数据的方差分析  
Table 5 Variance analysis for purity data of fucosterol from eight laboratories

方差来源	SS	f	MS
组间(实验室之和)	0.788 167	7	0.018 439
组内(实验组之间)	0.078 400	40	0.001 960
总和	0.866 567	47	-

**2.9 定值分析的不确定度评定** 根据GB/T 15000.3—2008<sup>[18]</sup>规定,定值结果由特性值和 $U_{\text{ts}}$ 组成。根据全部测定结果,计算岩藻甾醇标准样品的特性值和 $U_{\text{ts}}$ 。检验数据经统计分析,确定了岩藻甾醇标准样品的总平均值的标准偏差 $S(\bar{x})=0.14\%$ ,实验室内重复性标准偏差 $S_1=0.05\%$ ,实验室间重复性标准偏差 $S_2=0.14\%$ ,总平均值的不确定度 $U_{\text{char}}=U(\bar{x})=\sqrt{S_x^2+S_1^2(\bar{x})}=0.05\%$ ,式中 $S_x^2$ 为算术平均值 $\bar{x}$ 的偶然误差的标准偏差, $S_1^2(\bar{x})$ 为算术平均值 $\bar{x}$ 的变动性标准偏差。标准样品特性标准值的测量不确定度 $U_{\text{CRM}}$ 由标准值定值检验的不确定度 $U_{\text{char}}$ ,均匀性检验的不确定度 $U_{\text{bb}}$ 及稳定性检验的不确定度 $U_{\text{ts}}$ 组成。综合检验结果可得合成不确定度 $U=0.08\%$ ,扩展不确定度 $U_{95}=k \times U=2 \times 0.08\%=0.16\%$ (95%置信区间; $k$ 为 $U_{95}$ 的系数,取值2)。故岩藻甾醇标准样品的纯度99.54%,置信度为95%的 $U_{95}$ 是0.16%。

### 3 结论

目前,海洋来源的天然产物国家标准样品的研制相对陆上植物来源较少<sup>[22]</sup>。本文以海洋中药昆布为研究对象,建立了其主要成分岩藻甾醇的制备、分离、纯化方法,所制得岩藻甾醇标准样品根据标准样品工作导则的要求<sup>[18]</sup>,按照研制流程对其进

行了稳定性、均匀性及定值检测研究,定值结果为99.54%,置信度为95%的扩展不确定度值0.16%,表明该标准样品符合国家标准样品的技术规范要求,经天然产物标准样品工作组的评审,批准成为国家标准样品。在制备技术方面,解决了高纯岩藻甾醇单体的批量制备,在检测技术方面,建立了岩藻甾醇纯度的精确定量技术,实现从原料品质到终端样品的全程质量控制。岩藻甾醇标准样品的研制填补了国内该领域研究的空白,不仅可用于岩藻甾醇含量测定、检测方法评定、相关产品的检测与质量控制,对海带、马尾藻等含有岩藻甾醇的相关产品的检测提供了标准样品,也为检测结果的准确性、可比性及溯源性提供了技术支撑。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

### [参考文献]

[1] 秦昆明,史大华,董自波,等. 海洋中药资源综合开发利用现状与对策研究[J]. 中草药, 2020, 51(19): 5093-5098.

[2] 曾祥丽,丁安伟. 昆布的药理研究进展[J]. 中医药通报, 2007, 6(4): 63-66.

[3] 张怡评,陈伟珠,洪专,等. 海带化学成分及药理活性研究进展[J]. 中医药导报, 2014, 20(13): 61-64.

[4] 林慧婷,王培鑫,赖斌,等. 海带多糖的功能活性及应用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(14): 188-195.

[5] 杨玉莹,王倩,郝豪奇,等. 海带多酚的提取分离纯化及其体外活性[J]. 生物加工过程, 2018, 16(6): 52-56.

[6] 靳贵英,莫淑萍. 海藻羊栖菜质量研究综述[J]. 中国药品标准, 2018, 19(3): 165-170.

[7] 刘春平,王伟,程卓,等. 超高效液相色谱法测定羊栖菜中岩藻甾醇的含量[J]. 理化检验:化学分册, 2017, 53(5): 548-551.

[8] 耿银银,尹媛红,沈宏,等. 海藻功能物质的提取工艺、理化性质以及在农业领域中的应用[J]. 生态学杂志, 2017, 36(10): 2951-2960.

[9] 张锐,龚兴国,郭建军,等. 羊栖菜中岩藻甾醇、马尾藻甾醇以及水溶性多糖的综合提取工艺[J]. 农业工程学报, 2006, 22(4): 190-193.

[10] BAE H, LEE J Y, SONG G. Fucosterol suppresses the progression of human ovarian cancer by inducing mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress[J]. Mar Drugs, 2020, 18(5): 261.

[11] 杨玲,郑超群,吴福珍,等. 岩藻甾醇对卵巢癌细胞抑制作用的体外研究[J]. 北方药学, 2020, 17(5): 145-146, 196.

- [12] MAO Z F, SHEN X L, DONG P, et al. Fucosterol exerts antiproliferative effects on human lung cancer cells by inducing apoptosis, cell cycle arrest and targeting of Raf/MEK/ERK signalling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2019, 61: 152809.
- [13] JUNG H A, BHAKTA H K, MIN B S, et al. Fucosterol activates the insulin signaling pathway in insulin resistant HepG2 cells via inhibiting PTP1B [J]. *Arch Pharm Res*, 2016, 39(10): 1454-1464.
- [14] LEE J H, JUNG H A, KANG M J, et al. Fucosterol, isolated from *Ecklonia stolonifera*, inhibits adipogenesis through modulation of FoxO1 pathway in 3T3-L1 adipocytes [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2017, 69(3): 325-333.
- [15] 晋文慧, 张怡评, 方华, 等. 二十碳四烯酸甲酯标准样品的研制[J]. *化学分析计量*, 2019, 28(2): 1-5.
- [16] 马玉翠, 吴晓毅, 王尉, 等.  $\beta$ -谷甾醇标准样品的研制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(16): 90-95.
- [17] 张怡评, 陈伟珠, 晋文慧, 等. 亚油酸甲酯标准样品的研制[J]. *国际药学研究杂志*, 2020, 47(11): 982-988.
- [18] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 15000. 3—2008 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[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [19] LEE S, LEE Y S, JUNG S H, et al. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa* [J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(9): 719-722.
- [20] BANG M H, KIM H H, LEE D Y, et al. Anti-osteoporotic activities of fucosterol from sea mustard (*Undaria pinnatifida*) [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2011, 20(2): 343-347.
- [21] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 8170—2008 数值修约与极限数值的表示和判定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [22] 马玉翠, 王尉, 吴翠, 等. 天然产物国家标准样品的研制过程、现状及展望[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(24): 207-212.

[责任编辑 刘德文]