

灵芝中10种灵芝酸类成分含量一测多评法的建立[△]

罗舒*,宋怡,罗霞,江南,余梦瑶,许晓燕[#](四川省中医药科学院,成都 610041)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)14-1703-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.14.08



摘要 目的 建立同时测定灵芝中10种灵芝酸类成分的一测多评法。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法,以灵芝酸A为内参物,分别计算灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D 9种成分的相对校正因子,用相对校正因子计算上述灵芝酸类成分的含量,并与外标法测定结果进行比较。结果 灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的线性范围分别为0.032~3.996、0.040~4.971、0.037~4.568、0.028~3.558、0.033~4.177、0.044~5.440、0.032~3.944、0.040~4.994、0.045~5.593、0.035~4.342 mg/mL (R^2 均不小于0.999 2);精密密度、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均小于2%;平均加样回收率分别为99.43%、100.25%、98.50%、99.88%、100.59%、99.64%、98.50%、99.40%、99.64%、99.76%(RSD<2%, $n=6$)。灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的相对校正因子平均值分别是1.788 5、1.288 2、1.126 4、1.698 5、0.885 4、5.468 1、4.210 9、5.780 8、4.290 3;不同产地灵芝样品一测多评法所得含量与外标法的相对误差均在±12%之内。结论 以灵芝酸A为内参物同时测定灵芝中10种灵芝酸类成分含量的一测多评法是可行的,该方法准确性和重复性良好,可用于灵芝的质量控制。

关键词 灵芝酸;灵芝;一测多评法;相对校正因子

Establishment of quantitative analysis of multi-components by single marker for content determination of 10 ganoderic acids in *Ganoderma lucidum*

LUO Shu, SONG Yi, LUO Xia, JIANG Nan, YU Mengyao, XU Xiaoyan (Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish a quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) method for simultaneous determination of 10 ganoderic acids in *Ganoderma lucidum*. **METHODS** Using ganoderic acid A as internal reference, high-performance liquid chromatography (HPLC) method was adopted to calculate relative correction factors of the other 9 components, such as ganoderic acid B, ganoderic acid C₂, ganoderic acid D, ganoderic acid F, ganoderic acid H, ganoderic acid A, ganoderic acid B, ganoderic acid C, ganoderic acid D; the contents of above ganoderic acids were calculated with relative correction factors, and compared with the results of external standard method. **RESULTS** The linear relationship of ganoderic acid A, ganoderic acid B, ganoderic acid C₂, ganoderic acid D, ganoderic acid F, ganoderic acid H, ganoderic acid A, ganoderic acid B, ganoderic acid C and ganoderic acid D were 0.032-3.996, 0.040-4.971, 0.037-4.568, 0.028-3.558, 0.033-4.177, 0.044-5.440, 0.032-3.944, 0.040-4.994, 0.045-5.593 and 0.035-4.342 mg/mL (all $R^2 \geq 0.999 2$), respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were all lower than 2%. Their average recovery rates were 99.43%, 100.25%, 98.50%, 99.88%, 100.59%, 99.64%, 98.50%, 99.40%, 99.64% and 99.76%, respectively (RSD<2%, $n=6$). Relative correction factors of ganoderic acid B, ganoderic acid C₂, ganoderic acid D, ganoderic acid F, ganoderic acid H, ganoderic acid A, ganoderic acid B, ganoderic acid C and ganoderic acid D were 1.788 5, 1.288 2, 1.126 4, 1.698 5, 0.885 4, 5.468 1, 4.210 9, 5.780 8, 4.290 3, respectively. Relative errors between the content obtained by QAMS method and external standard method for *G. lucidum* from different origins were within ±12%. **CONCLUSIONS** It is feasible that the contents of 10 ganoderic acids are determined simultaneously by QAMS method, using ganoderic acid A as internal reference. This method shows good precision and reproducibility and can be used for the quality control of *G. lucidum*.

KEYWORDS ganoderic acid; *Ganoderma lucidum*; quantitative analysis of multi-components by single marker; relative correction factor

[△]基金项目 国家现代农业产业技术体系四川食用菌创新团队项目(No. SCCXTD-2023-07);四川省区域创新合作项目(No. 2022-YFQ0010);四川省科技计划项目(No. 2021YFYZ0012)

* 第一作者 助理研究员。研究方向:中药质量标准。E-mail: 871739452@qq.com

[#] 通信作者 副研究员。研究方向:中药质量标准。E-mail: 4086014@qq.com

灵芝为多孔菌科灵芝属真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 或紫芝 *G. sinense* Zhao, Xu et Zhang 的干燥子实体,在我国分布广泛,主产于四川、山东、安徽、浙江等地。灵芝始载于《神农本草经》,收录于2020年版《中国药典》,是我国著名的滋补药材之一。现代研究表明,灵芝在肿瘤辅助治疗方面具有较好的疗效^[1-2],灵芝多糖和灵芝酸类成分是其主要的功效成分,

其中灵芝酸类成分具有直接杀伤肿瘤细胞的作用^[3-4]。灵芝多糖含量、灵芝酸总量是2020年版《中国药典》中灵芝质量控制的指标,然而紫外分光光度法的专属性不强,检测时易受皂苷、油酸等物质干扰,无法保证测得的总三萜酸含量准确度^[5]。近年来,高效液相色谱(high-performance liquid chromatography, HPLC)法已成为测定酸类成分的主要手段之一,能有效解决专属性问题^[6-7]。但灵芝酸类成分的对照品不易获得,价格昂贵,限制了HPLC法在灵芝酸类成分检测中的应用。

一测多评(quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)法是利用中药有效成分间的内在函数关系和比例关系,仅测定1种成分(对照品易得),来实现多种成分(对照品没有或难以供应)的同步监控^[8],该方法已广泛应用于中药的质量控制工作中^[9-10]。2010年版《中国药典》首次在中药材黄连项下收录了QAMS法,2015年版《中国药典》增加至9个品种^[11],2020年版《中国药典》增加至16个品种^[4]。

本研究在前期建立的灵芝HPLC指纹图谱^[12]基础上,拟采用QAMS法,以灵芝酸A为内参物,得到灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D与灵芝酸A之间的相对校正因子,计算出这9种灵芝酸的含量,并与外标法(external standard method, ESM)比较,建立快捷、经济、全面的灵芝酸类成分含量测定的QAMS法,并对不同产地灵芝进行质量控制,为其质量标准修订提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有Series III型HPLC仪(美国SSI/ALLCHROM公司)、Waters 1525型HPLC仪(美国Waters公司)、AL104型分析电子天平[梅特勒·托利多仪器(上海)有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D对照品(批号分别为PS000596、PS161017-04、PS000597、PS000598、PS00007068-802、PS00007063-816、PS161026-02、PS161021-01、PS010840、PS000604)均购自成都普思生物科技股份有限公司,纯度均在98%以上,可供含量测定用;乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯。实验用的30批灵芝样品信息见表1,经四川省中医药科学院罗霞研究员鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为ZORBAX SB C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以乙腈(A)-0.1%乙酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~20 min, 30%A→31%A; 20~30 min, 31%A; 30~60 min, 31%A→32%A; 60~80 min, 32%A→40%A; 80~85 min, 40%A; 85~90 min, 40%A→82%A);进样体

表1 30批灵芝样品来源信息

编号	基原	产地	编号	基原	产地
S1	<i>G. lucidum</i>	四川	S16	<i>G. lucidum</i>	安徽
S2	<i>G. lucidum</i>	四川	S17	<i>G. lucidum</i>	安徽
S3	<i>G. lucidum</i>	四川	S18	<i>G. lucidum</i>	安徽
S4	<i>G. lucidum</i>	四川	S19	<i>G. lucidum</i>	安徽
S5	<i>G. lucidum</i>	四川	S20	<i>G. lucidum</i>	安徽
S6	<i>G. lucidum</i>	四川	S21	<i>G. lucidum</i>	安徽
S7	<i>G. lucidum</i>	四川	S22	<i>G. lucidum</i>	浙江
S8	<i>G. lucidum</i>	四川	S23	<i>G. lucidum</i>	浙江
S9	<i>G. lucidum</i>	四川	S24	<i>G. lucidum</i>	浙江
S10	<i>G. lucidum</i>	四川	S25	<i>G. lucidum</i>	浙江
S11	<i>G. lucidum</i>	山东	S26	<i>G. lucidum</i>	浙江
S12	<i>G. lucidum</i>	山东	S27	<i>G. lucidum</i>	浙江
S13	<i>G. lucidum</i>	山东	S28	<i>G. lucidum</i>	吉林
S14	<i>G. lucidum</i>	山东	S29	<i>G. lucidum</i>	吉林
S15	<i>G. lucidum</i>	山东	S30	<i>G. lucidum</i>	吉林

积为10 μL;检测波长为254 nm;柱温为30 ℃;流速为1.0 mL/min。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D对照品各适量,加入甲醇制成质量浓度分别为3.996、4.971、4.568、3.558、4.177、5.440、3.944、4.994、5.593、4.342 mg/mL的混合对照品溶液。

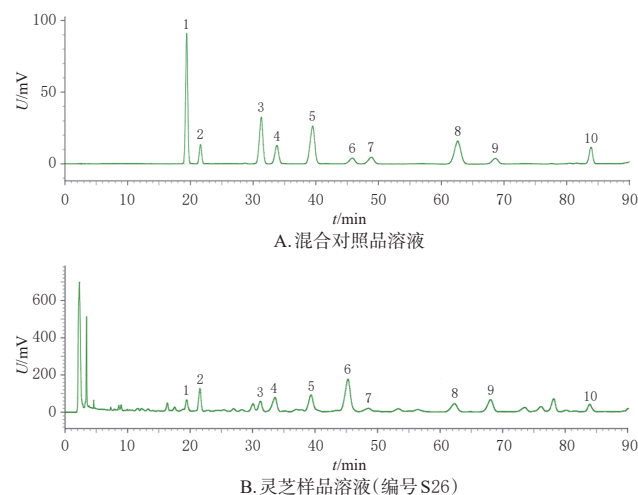
2.3 供试品溶液的制备

取灵芝样品粉末(过20目筛)约1.0 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,加入95%乙醇,加热回流提取2次,每次40 mL,提取60 min,滤过,合并滤液,减压干燥,加入1 mL甲醇使溶解,经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得供试品溶液。

2.4 HPLC含量测定法的建立

2.4.1 系统适用性试验

取上述混合对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液(甲醇),按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1(空白对照溶液图略)。由图1可知,灵芝酸A等10种成分的分离效果较好,空白对照溶液对测定无干扰。



1: 灵芝烯酸C; 2: 灵芝酸C₂; 3: 灵芝烯酸B; 4: 灵芝酸B; 5: 灵芝烯酸A; 6: 灵芝酸A; 7: 灵芝酸H; 8: 灵芝烯酸D; 9: 灵芝酸D; 10: 灵芝酸F。
图1 混合对照品溶液和灵芝样品溶液的HPLC色谱图

2.4.2 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下的混合对照品溶液0.04、0.10、0.25、1.0、2.5、5.0 mL置于5 mL容量瓶中定容,制得6种不同质量浓度的混合对照品溶液。按照“2.1”项下色谱条件进行测定,记录峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度(X)为横坐标作回归曲线方程,各成分在相应的质量浓度范围内线性关系良好。结果见表2。

表2 10种灵芝酸类成分的线性关系考察结果

对照品	回归方程	线性范围/(mg/mL)	R^2
灵芝酸A	$Y=3\times 10^6X-434\ 733$	0.032~3.996	0.999 4
灵芝酸B	$Y=5\times 10^6X-831\ 880$	0.040~4.971	0.999 4
灵芝酸C ₂	$Y=4\times 10^6X-475\ 593$	0.037~4.568	0.999 9
灵芝酸D	$Y=3\times 10^6X-334\ 275$	0.028~3.558	0.999 9
灵芝酸F	$Y=5\times 10^6X-540\ 651$	0.033~4.177	0.999 9
灵芝酸H	$Y=3\times 10^6X-407\ 794$	0.044~5.440	0.999 8
灵芝烯酸A	$Y=2\times 10^6X-2\times 10^6$	0.032~3.944	0.999 8
灵芝烯酸B	$Y=1\times 10^6X-2\times 10^6$	0.040~4.994	0.999 8
灵芝烯酸C	$Y=2\times 10^6X-1\times 10^6$	0.045~5.593	0.999 2
灵芝烯酸D	$Y=1\times 10^6X-1\times 10^6$	0.035~4.342	0.999 2

2.4.3 精密度试验

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录10种对照品的峰面积。结果显示,灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的峰面积RSD分别为1.64%、1.05%、0.89%、1.65%、1.08%、0.96%、1.66%、1.37%、0.81%、0.99% ($n=6$),表明方法精密度良好。

2.4.4 稳定性试验

取同一供试品溶液(编号S1),分别于0、2、4、8、16、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果显示,灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的峰面积RSD分别为1.22%、1.65%、1.53%、0.98%、1.17%、0.67%、0.98%、1.28%、1.16%、1.45% ($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.4.5 重复性试验

取同一批样品6份(编号S1),分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,测定并记录峰面积,按标准曲线法计算含量。结果显示,灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的含量RSD分别为1.35%、1.21%、1.68%、0.86%、1.07%、1.52%、1.42%、0.99%、0.65%、1.71% ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验

取6份已知含量的同一样品粉末(编号S1)1.0 g,精密称定,按1:1的比例精密加入各对照品溶液,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,测定并记录峰面积,计算加样回收率。结果显示,灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸

H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的平均加样回收率分别为99.43%、100.25%、98.50%、99.88%、100.59%、99.64%、98.50%、99.40%、99.64%、99.76%,RSD分别为1.20%、1.41%、0.83%、1.10%、1.09%、1.11%、0.96%、0.71%、0.93%、0.95% ($n=6$),表明该方法准确度良好。

2.5 QAMS法的建立

2.5.1 相对校正因子计算

取混合对照品溶液分别进样2、4、6、8、10、20 μL ,测定并记录峰面积。以性质稳定、价廉易得的灵芝酸A(k)为内参物,按公式 $f_{km}=f_k/f_m=W_k\times A_m/(W_m\times A_k)$ ^[9]计算灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的相对校正因子,式中 A_k 为内参物峰面积, W_k 为内参物质量或浓度, A_m 为待测成分的峰面积, W_m 为待测成分的质量或浓度。结果显示,灵芝酸B、灵芝酸C₂等灵芝酸类成分的相对校正因子平均值分别是1.788 5、1.288 2、1.126 4、1.698 5、0.885 4、5.468 1、4.210 9、5.780 8、4.290 3。

2.5.2 待测成分的色谱峰定位

以灵芝酸A为基准峰,计算其他9种成分的相对保留时间,确定其在色谱图中的位置。结果显示,灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D的相对保留时间平均值分别是0.429 2、0.476 3、0.674 8、0.740 2、0.867 6、1.067 6、1.373 5、1.504 5、1.844 6。

2.5.3 相对校正因子和相对保留时间的耐用性考察

考察 Series III型、Waters 1525型2种HPLC仪及ZORBAX SB-C₁₈、Alltima C₁₈(250 mm \times 4.6 mm,5 μm)2种色谱柱对相对校正因子和相对保留时间的影响。结果显示,灵芝酸B、灵芝酸C₂、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D相对校正因子的RSD分别为0.86%、0.47%、0.95%、1.13%、1.68%、0.98%、1.63%、1.07%、1.97% ($n=3$),相对保留时间的RSD分别为1.90%、1.97%、1.55%、1.40%、1.34%、1.01%、1.38%、0.81%、0.84% ($n=3$),表明不同仪器和色谱柱对相对校正因子和相对保留时间无明显影响。

2.6 样品测定

按“2.3”项下方法制备不同产地灵芝供试品溶液($n=3$),按“2.1”项下色谱条件进样测定,分别采用QAMS法和ESM计算含量及相对误差(relative error, RE),结果见表3。两种方法所得结果无明显差异,说明QAMS法可用于评价灵芝的多种灵芝酸类成分含量。

3 讨论

灵芝酸类成分是灵芝主要的功效成分,但大多数灵芝酸类成分的对照品不易获得,限制了HPLC法在其检测中的应用。本文在前期研究的基础上,以灵芝中含量较高且稳定、对照品相对容易获得的灵芝酸A为内参物,通过优化色谱条件,建立了QAMS法。

本研究分别考察了不同品牌HPLC仪和色谱柱对

表3 不同产地灵芝中10种灵芝酸类成分的含量(n=3)

编号	灵芝酸A			灵芝酸B			灵芝酸C ₁			灵芝酸D			灵芝酸F			灵芝酸H			灵芝烯酸A			灵芝烯酸B			灵芝烯酸C			灵芝烯酸D		
	ESM/ /(mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %	ESM/ (mg/g)	QAMS/ (mg/g)	RE/ %
S1	1.542	0.747	0.752	0.67	0.666	0.663	-0.45	1.255	1.252	-0.24	1.258	1.252	-0.48	1.152	1.147	-0.43	0.123	0.123	0	0.228	0.223	-2.19	0.055	0.058	5.45	0.116	0.114	-1.72		
S2	0.742	0.318	0.323	1.57	0.309	0.305	-1.29	0.472	0.468	-0.85	0.544	0.545	0.18	0.458	0.455	-0.66	0.235	0.230	-2.13	0.226	0.228	0.88	0.102	0.105	2.94	0.126	0.126	0		
S3	2.069	-	-	1.629	1.626	-0.18	1.345	1.340	-0.37	1.048	1.042	-0.57	0.921	0.916	-0.54	0.205	0.209	1.95	0.229	0.231	0.87	0.109	0.108	-0.92	0.138	0.134	-2.90			
S4	1.374	0.658	0.655	-0.46	0.788	0.787	-0.13	0.702	0.695	-1.00	0.396	0.402	1.52	0.782	0.775	-0.90	0.252	0.248	-1.59	0.450	0.452	0.44	0.162	0.157	-3.09	0.310	0.311	0.32		
S5	1.427	0.711	0.702	-1.27	0.522	0.516	-1.15	1.169	1.174	0.43	0.922	0.919	-0.33	1.076	1.080	0.37	0.187	0.183	-2.14	0.226	0.225	-0.44	0.093	0.085	-8.60	0.149	0.146	-2.01		
S6	1.520	0.713	0.719	0.84	0.585	0.579	-1.03	1.252	1.260	0.64	1.035	1.033	-0.19	1.195	1.197	0.17	0.146	0.144	-1.37	0.209	0.209	0	0.068	0.069	1.47	0.145	0.140	-3.45		
S7	1.779	0.508	0.493	-2.95	0.423	0.417	-1.42	1.004	1.006	0.20	0.618	0.610	-1.29	0.392	0.387	-1.28	0.272	0.270	-0.74	0.271	0.278	2.58	0.072	0.079	9.72	0.323	0.325	0.62		
S8	1.500	0.601	0.605	0.67	0.488	0.482	-1.23	0.832	0.840	0.96	0.643	0.645	0.31	0.570	0.574	0.70	0.133	0.134	0.75	0.341	0.343	0.59	0.072	0.077	6.94	0.152	0.148	-2.63		
S9	1.245	0.597	0.603	1.01	0.512	0.508	-0.78	0.985	0.977	-0.81	0.948	0.946	-0.21	0.692	0.687	-0.72	-	-	-	0.218	0.212	-2.75	0.084	0.079	-5.95	0.168	0.162	-3.57		
S10	2.344	0.892	0.901	1.01	0.856	0.850	-0.70	1.806	1.810	0.22	1.192	1.189	-0.25	0.812	0.814	0.25	0.175	0.178	1.71	0.229	0.231	0.87	0.077	0.075	-2.60	0.132	0.126	-4.55		
S11	1.488	-	-	-	0.411	0.410	-0.24	0.881	0.875	-0.68	1.360	1.361	0.07	0.960	0.961	0.10	0.189	0.188	-0.53	0.268	0.274	2.24	0.081	0.088	8.64	0.258	0.264	2.33		
S12	2.059	1.011	1.005	-0.59	0.607	0.598	-1.48	1.042	1.046	0.38	1.424	1.423	-0.07	1.272	1.270	-0.16	0.238	0.236	-0.84	0.279	0.291	4.30	0.096	0.091	-5.21	0.259	0.256	-1.16		
S13	0.294	-	-	-	0.139	0.134	-3.60	0.101	0.107	5.94	0.211	0.209	-0.95	0.172	0.175	1.74	0.121	0.119	-1.65	0.222	0.227	2.25	0.062	0.056	-9.68	0.152	0.144	-5.26		
S14	1.269	0.177	0.183	3.39	0.495	0.490	-1.01	1.126	1.130	0.36	1.312	1.308	-0.30	0.851	0.852	0.12	0.229	0.231	0.87	0.285	0.277	-2.81	0.101	0.093	-7.92	0.291	0.282	-3.09		
S15	1.238	0.604	0.599	-0.83	0.473	0.470	-0.63	0.479	0.488	1.88	0.456	0.456	0	0.601	0.592	-1.50	0.540	0.542	0.37	0.596	0.585	-1.85	0.175	0.166	-5.14	0.574	0.587	2.26		
S16	0.465	0.161	0.166	3.11	0.322	0.325	0.93	0.791	0.795	0.51	0.917	0.912	-0.55	0.687	0.691	0.58	0.176	0.175	-0.57	0.264	0.259	-1.89	0.078	0.076	-2.56	0.243	0.234	-3.70		
S17	1.783	0.982	0.973	-0.92	0.959	0.964	0.52	0.765	0.770	0.65	0.502	0.504	0.40	0.622	0.627	0.80	0.359	0.354	-1.39	0.422	0.418	-0.95	0.130	0.132	1.54	0.431	0.422	-2.09		
S18	1.297	0.755	0.757	0.26	0.930	0.931	0.11	0.532	0.538	1.13	0.411	0.404	-1.70	0.735	0.738	0.41	0.432	0.429	-0.69	0.781	0.772	-1.15	0.259	0.264	1.93	0.501	0.496	-1.00		
S19	1.330	0.549	0.544	-0.91	0.433	0.436	0.69	0.698	0.703	0.72	0.518	0.521	0.58	0.911	0.914	0.33	0.401	0.396	-1.25	0.540	0.543	0.56	0.128	0.126	-1.56	0.484	0.474	-2.07		
S20	2.431	0.851	0.853	0.24	0.566	0.564	-0.35	1.482	1.488	0.40	1.198	1.202	0.33	0.827	0.828	0.12	0.155	0.154	-0.65	0.211	0.214	1.42	0.072	0.069	-4.17	0.122	0.121	-0.82		
S21	0.720	0.533	0.539	1.13	0.501	0.502	0.20	0.390	0.393	0.77	0.345	0.342	-0.87	0.335	0.336	0.30	0.225	0.225	0	0.320	0.321	0.31	0.096	0.099	3.13	0.233	0.236	1.29		
S22	0.964	-	-	-	0.468	0.455	-2.78	0.558	0.563	0.90	0.556	0.558	0.36	0.666	0.665	-0.15	0.153	0.152	-0.65	0.236	0.230	-2.54	0.102	0.103	0.98	0.158	0.154	-2.53		
S23	1.311	1.022	1.023	0.10	0.421	0.425	0.95	1.055	1.056	0.09	0.762	0.757	-0.66	1.055	1.051	-0.38	0.158	0.155	-1.90	0.572	0.569	-0.52	0.065	0.066	1.54	0.135	0.139	2.96		
S24	1.303	-	-	-	0.310	0.302	-2.58	1.072	1.076	0.37	0.848	0.852	0.47	0.900	0.902	0.22	0.148	0.153	3.38	0.442	0.439	-0.68	0.065	0.064	-1.54	0.142	0.147	3.52		
S25	1.249	0.599	0.594	-0.83	0.267	0.272	1.87	1.292	1.289	-0.23	0.405	0.408	0.74	0.692	0.685	-1.01	0.142	0.142	0	0.292	0.285	-2.40	0.078	0.083	6.41	0.175	0.170	-2.86		
S26	2.863	1.011	1.015	0.40	0.911	0.915	0.44	1.475	1.472	-0.20	0.870	0.874	0.46	0.872	0.868	-0.46	0.158	0.150	-5.06	0.333	0.329	-1.20	0.094	0.093	-1.06	0.159	0.158	-0.63		
S27	1.417	0.713	0.719	0.84	0.496	0.501	1.01	0.991	0.985	-0.61	0.733	0.733	0	0.911	0.908	-0.33	0.153	0.151	-1.31	0.339	0.341	0.59	0.071	0.063	-11.27	0.121	0.118	-2.48		
S28	1.326	0.819	0.823	0.49	0.801	0.799	-0.25	0.862	0.857	-0.58	0.339	0.330	-2.65	0.554	0.549	-0.90	0.269	0.273	1.49	0.238	0.236	-0.84	0.115	0.114	-0.87	0.156	0.152	-2.56		
S29	2.147	0.550	0.553	0.55	0.515	0.519	0.78	1.148	1.152	0.35	0.641	0.643	0.31	0.733	0.735	0.27	0.372	0.374	0.54	0.432	0.427	-1.16	0.066	0.062	-6.06	0.182	0.176	-3.30		
S30	2.898	0.539	0.534	-0.93	0.563	0.569	1.07	2.009	2.015	0.30	1.090	1.093	0.28	0.766	0.767	0.13	0.136	0.130	-4.41	0.298	0.301	1.01	0.068	0.069	1.47	0.107	0.111	3.74		

—:未检出。

灵芝酸A与灵芝酸B、灵芝酸C₁、灵芝酸D、灵芝酸F、灵芝酸H、灵芝烯酸A、灵芝烯酸B、灵芝烯酸C、灵芝烯酸D之间相对校正因子和相对保留时间的影响,结果表明各成分相对校正因子和相对保留时间重现性良好。对30批不同产地灵芝中10种灵芝酸类成分进行测定,结果表明,本文建立的QAMS法测定结果与ESM测定结果无明显差异,说明该QAMS法具有可行性,可用于灵芝的质量评价研究。

参考文献

[1] AHMAD R, RIAZ M, KHAN A, et al. *Ganoderma lucidum* (reishi) an edible mushroom; a comprehensive and critical review of its nutritional, cosmeceutical, mycochemical, pharmacological, clinical, and toxicological properties[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(11): 6030-6062.

[2] UNLU A, NAYIR E, KIRCA O, et al. *Ganoderma lucidum* (reishi mushroom) and cancer[J]. *J BUON*, 2016, 21(4): 792-798.

[3] 李淑娟, 刘宏壁, 李晓云, 等. 灵芝醇提取物的抗肿瘤活性研究[J]. *华西药学杂志*, 2018, 33(2): 175-178.

[4] 余梦瑶, 许晓燕, 魏巍, 等. 38株灵芝子实体抗肿瘤质量的生物评价[J]. *中国食用菌*, 2015, 34(2): 47-51.

[5] 张忠, 张劲松, 刘艳芳, 等. 分光光度法测定灵芝中总三

萜含量方法探讨[J]. *上海农业学报*, 2016, 32(1): 61-65.

[6] 王存琴, 汪雷, 陈颖, 等. 高效液相色谱法同时测定不同采收期枸杞叶中4种三萜类成分含量[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(9): 1092-1096.

[7] 万鸣, 黄超, 杨玉莹, 等. 不同产地茯苓中7种三萜类成分含量的测定及聚类分析[J]. *中国药房*, 2020, 31(17): 2101-2106.

[8] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(23): 1925-1928.

[9] 罗婷, 王佳琪, 江宇勤, 等. 一测多评法测定不同产地黄柏炭中4种生物碱含量[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(8): 1357-1364.

[10] 姬翔宇, 张子雯, 陈姿伊, 等. 一测多评法同时测定雷公藤药材及制剂雷公藤多苷片中7个质控成分[J]. *中草药*, 2022, 53(17): 5338-5347.

[11] 杨洋, 黄良永, 朱美玲, 等. 一测多评法在中国药典2015年版中的应用[J]. *中南药学*, 2017, 15(12): 1738-1741.

[12] 许晓燕, 余梦瑶, 罗霞. HPLC分析灵芝指纹图谱及体外抗肿瘤活性的谱效关系[J]. *中国测试*, 2020, 46(10): 23-27, 36.

(收稿日期:2023-01-18 修回日期:2023-06-03)

(编辑:曾海蓉)