

高效液相色谱法测定不同产地及品种灵芝三萜类成分的含量

贾红岩^{1,2} 王亚涛^{1,2} 张芝华^{1,3} 冯娜¹ 刘艳芳¹ 周帅¹ 张忠¹ 张劲松¹ 唐庆九^{1*}

(1. 国家食用菌工程技术研究中心 农业部南方食用菌资源利用重点实验室

上海市农业科学院食用菌研究所 上海 201403)

(2. 上海海洋大学食品学院 上海 201306)

(3. 上海应用技术学院 上海 201418)

摘要:【目的】建立同时测定灵芝子实体中灵芝酸 C₂、灵芝酸 B、灵芝酸 A、灵芝酮三醇、灵芝酸 DM、灵芝酸 T、灵芝醇 B、灵芝酸 S、灵芝酸 G、灵芝酸 F、灵芝酸 D、灵芝稀酸 B 12 种三萜成分的高效液相色谱法。【方法】选用 Agilent ZORBAX SB-Aq (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈-醋酸(0.01%)水溶液为流动相进行梯度洗脱,流速 1.0 mL/min,分析波长 252 nm,柱温 30 °C,对不同产地及品种的灵芝样品进行测定分析。【结果】同一产地不同品种间三萜类成分含量具有显著差异,不同产地的灵芝样品三萜成分含量也有显著差异,所建方法精密度高,稳定性和重复性好。【结论】所建方法适用于 12 种三萜成分的同时测定。

关键词: 灵芝, 高效液相色谱法, 三萜类化合物

Determination of triterpenoids in *Ganoderma lingzhi* from different areas and species by HPLCJIA Hong-Yan^{1,2} WANG Ya-Tao^{1,2} ZHANG Zhi-Hua^{1,3} FENG Na¹ LIU Yan-Fang¹
ZHOU Shuai¹ ZHANG Zhong¹ ZHANG Jing-Song¹ TANG Qing-Jiu^{1*}

(1. National Engineering Research Center of Edible Fungi, Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization(South), Ministry of Agriculture, China, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

(2. College of Food Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

(3. Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China)

Abstract: [Objective] We established an HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method to determine Ganoderic acid C₂, Ganoderic acid B, Ganoderic acid A, Ganodermanontriol, Ganoderic acid DM, Ganoderic acid T, Ganoderiol B, Ganoderic acid S, Ganoderic acid G, Ganoderic acid F, Ganoderic acid D, Ganoderenic acid B in *Ganoderma lingzhi*. [Methods] Agilent ZORBAX SB-Aq (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was adopted as the chromatographic column, with

Foundation item: Key Technologies Research & Development Program of China (No. 2013BAD16B08-02)

*Corresponding author: Tel: 86-21-62205130; E-mail: tangqingjiu@saas.sh.cn

Received: January 29, 2016; Accepted: April 14, 2016; Published online (www.cnki.net): May 04, 2016

基金项目: 国家科技支撑计划项目(No. 2013BAD16B08-02)

*通讯作者: Tel: 86-21-62205130; E-mail: tangqingjiu@saas.sh.cn

收稿日期: 2016-01-29; 接受日期: 2016-04-14; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-05-04

acetonitrile-0.01% acetic acid solution using gradient elution at 30 °C with a flow rate of 1 mL/min, and the UV detection wavelength was set at 252 nm. Composition and content of different varieties of triterpenoids from different areas were determined by the above designed method. **[Results]** Triterpenoids in different varieties of *Ganodema lingzhi* in one area and samples from different areas were significantly varied in their compositions and contents; the method was sensitive, reliable and reproducible. **[Conclusion]** This method can be used to determine triterpenoids.

Keywords: *Ganodema lingzhi*, HPLC, Triterpenoids

灵芝(*Ganodema lingzhi*)在我国历史悠久, 是一种药用价值很高的中药材。近年来的分子生物学证据表明, 我国的栽培灵芝是模式产地属于中国的灵芝新种 *Ganodema lingzhi* Sheng H. Wu, Y. Cao & Y.C. Dai^[1-2], 属于真菌界担子菌门伞菌纲多孔菌目灵芝科灵芝属的成员^[3], 俗称“仙草”、“还魂草”, 一直被视为滋补强身、延年益寿的珍贵药材。现代医学表明, 灵芝具有调节免疫力、抗肿瘤、抗衰老、保肝、提高机体耐缺氧能力等活性^[4-5], 对于治疗高血压、高血脂、肝病、心血管疾病等具有良好的临床疗效^[6]。

灵芝具有多种活性物质。三萜类化合物是其主要的活性物质之一。灵芝中三萜类化合物种类很多, 目前统计, 国内外研究人员已分离出一百多种三萜成分^[7-8]。灵芝酸 A 和灵芝酸 B 是 1982 年首次从灵芝中分离出的三萜类化合物^[9]。药理研究表明, 灵芝三萜具有解毒、保肝、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗组织胺释放、抑制血管紧张素、调节免疫力等功效^[10-11]。比色法^[12-13]和高效液相色谱法^[14-20]是灵芝三萜定量分析的主要方法, 其中比色法用齐墩果酸或熊果酸为对照品, 测得总三萜的含量往往与实际含量有较大差别, HPLC 法具有分离效果好、重现性好、灵敏度高等优点, 目前广泛用于灵芝三萜的测定方法中。但由于灵芝酸的标准品难以分离纯化, 国内 HPLC 法测定灵芝三萜成分文献中, 所建方法测定一种三萜酸或几种三萜酸的较多, 王筱婧等^[20]建立了测定灵芝酸 C₂ 的 HPLC 方法, 董虹玲^[14]等、姚松君^[21]建立了同时测定灵芝酸 C₂、灵芝酸 G 和灵芝酸 A 三种三萜酸的方法, 李保明^[16]等建立了同时测定 9 种三萜酸的方法等。灵芝三萜类化合物的测定方法有两个标准: NY/SJ

339-2001 和 NY/T 2278-2012。NY/SJ 339-2001 标准具有误差大、试剂干扰等不足; NY/T 2278-2012 标准仅适用于灵芝酸 A 和灵芝酸 B 的 HPLC 方法测定。本文在实验室分离纯化多种三萜标准品的基础上, 建立了同时测定灵芝三萜中包括酸性部分和中性部分的 12 种三萜标准品高效液相色谱梯度洗脱的方法, 通过方法学检验, 该方法简单、精密度高、重复性好, 并用此方法测定了不同产地及品种灵芝子实体三萜类成分的含量。

1 材料与方法

1.1 材料

福建省产地: 菌草鹿角状灵芝(FJ)国家菌草工程技术研究中心提供; 浙江省产地: 生产 119 (ZJ); 安徽省产地: 黄山 1 号(AH); 吉林省产地: 赤芝(JL-1), 野生灵芝 1 (JL-2), 野生灵芝 2 (JL-3)。

1.2 主要试剂

灵芝酸 C₂、灵芝酸 B、灵芝酸 A、灵芝酮三醇、灵芝酸 DM、灵芝酸 T、灵芝醇 B、灵芝酸 S、灵芝酸 G、灵芝酸 F、灵芝酸 D、灵芝稀酸 B 等三萜标准品购自美国 Sigma 公司; 色谱纯乙腈, 美国 Dikma 公司; 甲醇、冰醋酸, 国药集团药业股份有限公司; 水为超纯水。

1.3 主要仪器

Waters 600 型高效液相色谱仪系统: 在线脱气, 四元泵, Waters 717 plus 自动进样器, 柱温箱, Waters 2996 型二极管阵列检测器, Empower 色谱工作站及数据处理系统, 美国 Waters 公司; KQ-600B 型超声清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; ELGA PURELAB Ultra 超纯水仪, 威立雅水处理技术(上海)有限公司; 5415D 微型离心机, 德国

Eppendorf 公司; MS105DU 电子分析天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司; 小型粉碎机, 上海淀九中药机械制造有限公司。

1.4 实验方法

1.4.1 高效液相色谱条件: 选用 Agilent ZORBAX SB-Aq (4.6 mm×250 mm, 5 μ m) 色谱柱, 以乙腈-醋酸(0.01%)水溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 190 nm–400 nm 3D 数据采集, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L, 分析波长为 252 nm, 梯度洗脱程序: 乙腈(A)-醋酸(0.01%)水溶液(B): 0→25 min, A: 28%→30%; 25→50 min, A: 30%→39%; 50→60 min, A: 39%→60%; 60→85 min, A: 60%→100%; 85→100 min, A: 100%; 100→101 min, A: 100%→28%; 101→110 min, A: 28%。

1.4.2 标准品溶液的制备: (1) 单标溶液的配制: 精密称取干燥至恒重的 12 种三萜标准品: 灵芝酸 C₂、灵芝酸 B、灵芝酸 A、灵芝酮三醇 GT-2、灵芝酸 DM、灵芝酸 T、灵芝醇 B、灵芝酸 S、灵芝酸 G、灵芝酸 F、灵芝酸 D、灵芝稀酸 B 各适量, 分别加入甲醇配制成 1 g/L 的标准品储备液, 备用。

(2) 系列混合标准品溶液的制备: 精密量取上述单一标准品溶液各适量, 置于 25 mL 容量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 制成含灵芝酸 C₂ (100 mg/L)、灵芝酸 B (100 mg/L)、灵芝酸 A (100 mg/L)、灵芝酮三醇 GT-2 (105 mg/L)、灵芝酸 DM (100 mg/L)、灵芝酸 T (95 mg/L)、灵芝酸 B (100 mg/L)、灵芝酸 S (105 mg/L)、灵芝酸 G (112 mg/L)、灵芝酸 F (130 mg/L)、灵芝酸 D (106 mg/L)、灵芝稀酸 B (100 mg/L) 的混合标准品溶液, 并稀释成 6 个系列浓度混合标准品溶液, 备用。

1.4.3 样品溶液的制备: 分别取粉碎后的样品 0.5 g, 置于 10 mL 带塞的试管中, 精确加入 10 mL 无水乙醇, 密塞, 摇匀, 连续超声(功率 600 W, 频率 40 kHz)提取 1 h, 冷却至室温, 补足失重, 摇匀, 移取 2.0 mL 于离心管中, 13 200 r/min 离心 2 min, 移取上清液, 过 0.22 μ m 微孔有机相滤膜,

滤液供 HPLC 分析用。

2 结果与分析

2.1 三萜类标准样品的定性分析

将三萜类成分的单一标准品溶液与 1.4.2(2)项中的混合标准品溶液分别进样分析, 根据三萜类成分的保留时间定性, 三萜混合标准品图谱及样品(茵草鹿角状灵芝)的分析图谱, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 在上述色谱条件下, 各色谱峰分离度良好, 12 种三萜类标准样品的保留时间分别为灵芝酸 C₂: 24.43±0.01 min; 灵芝酸 G: 24.42±0.01 min; 灵芝稀酸 B: 30.90±0.00 min; 灵芝酸 B: 33.71±0.01 min; 灵芝酸 A: 41.22±0.01 min; 灵芝酸 D: 49.12±0.01 min; 灵芝酸 F: 58.16±0.02 min; 灵芝酮三醇: 70.88±0.01 min; 灵芝酸 DM: 74.17±0.01 min; 灵芝酸 S: 78.75±0.01 min; 灵芝酸 T: 78.01±0.01 min; 灵芝醇 B: 81.04±0.01 min。

2.2 方法学验证

2.2.1 线性关系考察: 将 1.4.2(2)项中 6 个系列浓度混合标准品溶液按照 2.1 项中的色谱条件进行 HPLC 检测分析, 测定峰面积, 以标准品溶液浓度为 X 轴, 色谱峰面积 Y 轴绘制标准曲线, 得回归方程、相关系数, 结果见表 1。

2.2.2 精密度实验: 取 1.4.2(2)项中同一混合标准品溶液, 连续进样 6 次, 记录每种核苷类成分峰面积并计算峰面积的 RSD, 结果见表 1, 表明仪器精密度良好。

2.2.3 重复性实验: 精确称取同一灵芝样品 6 份, 按照 1.4.3 项方法平行制备样品溶液, 并分别进样测定, 计算每种三萜类成分的含量, 并分别计算出含量的 RSD, 结果见表 1, 表明测定方法的重复性良好。

2.2.4 稳定性实验: 取同一样品溶液, 分别于 0、2、4、8、12 h 进样, 按照 1.4.1 项的色谱条件进行测定, 分别计算每种三萜类成分峰面积, 分别求出 RSD, 结果见表 1, 表明样品溶液在 12 h 内稳定性良好。

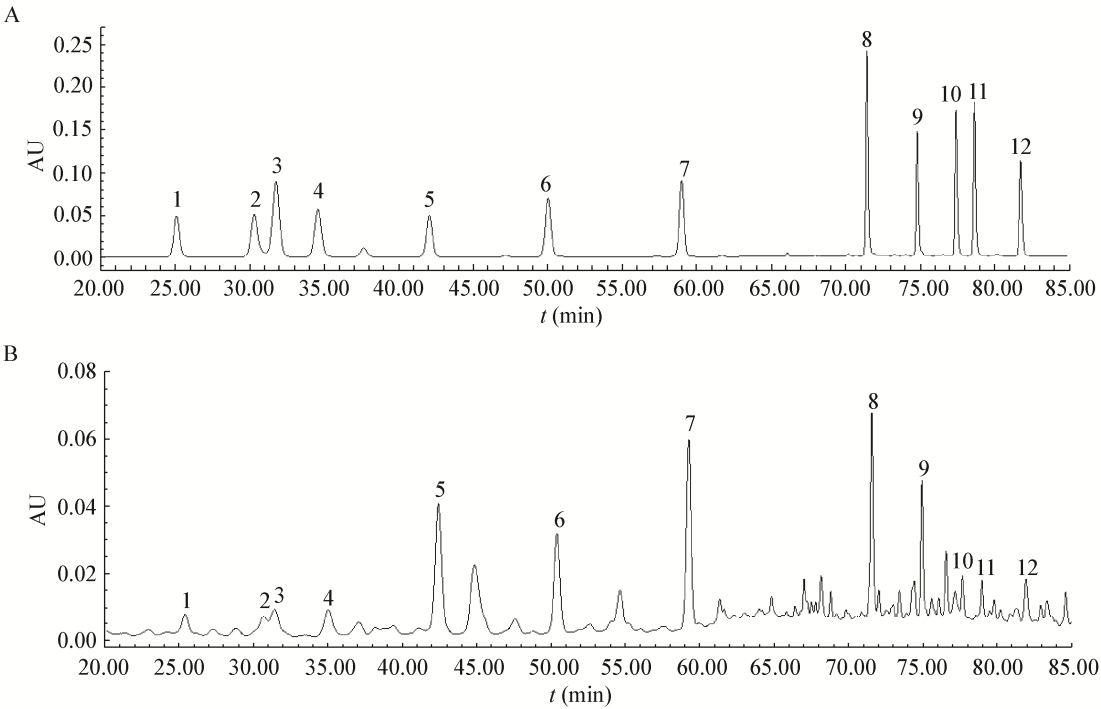


图 1 三萜类标准品混合组分与样品的 HPLC 图谱

Figure 1 Chromatogram of mixture of triterpenoids standards and tested sample

注：A：标准品；B：样品。1：灵芝酸 C₂；2：灵芝酸 G；3：灵芝稀酸 B；4：灵芝酸 B；5：灵芝酸 A；6：灵芝酸 D；7：灵芝酸 F；8：灵芝酮三醇；9：灵芝酸 DM；10：灵芝酸 S；11：灵芝酸 T；12：灵芝醇 B。

Note: A: Standard; B: Sample. 1: Ganoderic acid C₂; 2: Ganoderic acid G; 3: Ganoderenic acid B; 4: Ganoderic acid B; 5: Ganoderic acid A; 6: Ganoderic acid D; 7: Ganoderic acid F; 8: Ganodermanontriol; 9: Ganoderic acid DM; 10: Ganoderic acid S; 11: Ganoderic acid T; 12: Ganoderiol B.

表 1 不同三萜类成分的方法学数据			
Table 1 Data of methodology of different triterpenoids			
标准溶液 Standard samples	回归方程 Regressive equations	相关系数 Correlative coefficient	线性范围 Linear bounds (mg/L)
灵芝酸 C ₂ Ganoderic acid C ₂	$Y=1.36e+004X-7.82e+003$	1.000 0	3.125-100
灵芝酸 G Ganoderic acid G	$Y=1.58e+004X-1.26e+004$	0.999 8	3.500-112
灵芝稀酸 B Ganoderenic acid B	$Y=3.02e+004X-1.17e+004$	0.999 9	3.125-100
灵芝酸 B Ganoderic acid B	$Y=1.91e+004X-1.37e+004$	0.999 9	3.125-100
灵芝酸 A Ganoderic acid A	$Y=1.43e+004X-9.73e+003$	1.000 0	3.125-100
灵芝酸 D Ganoderic acid D	$Y=1.81e+004X-5.21e+003$	0.999 9	3.312-106
灵芝酸 F Ganoderic acid F	$Y=1.54e+004X-4.21e+003$	1.000 0	4.062-130
灵芝酮三醇 Ganodermanontriol	$Y=2.61e+004X-2.04e+004$	1.000 0	3.281-105
灵芝酸 DM Ganoderic acid DM	$Y=1.63e+004X-2.54e+003$	0.999 9	3.125-100
灵芝酸 S Ganoderic acid S	$Y=1.88e+004X-4.23e+003$	1.000 0	3.281-105
灵芝酸 T Ganoderic acid T	$Y=2.17e+004X-2.25e+003$	1.000 0	2.968-95
灵芝醇 B Ganoderiol B	$Y=1.49e+004X-1.33e+003$	1.000 0	3.125-100

2.2.5 加样回收率实验:精密称取同一已知含量的灵芝样品 6 份,按 1.4.3 项制备供试样品溶液,分别准确加入一定量的混合标准品溶液,进行 HPLC 测定分析,计算回收率。结果见表 2。

2.3 样品含量测定

精确称取待测样品各两份,按 1.4.3 项方法制备样品溶液,按上述色谱条件进行测定,通过样品 HPLC 色谱图洗脱峰的保留时间与标准样对比,得

出待测样品所含三萜的种类,外标曲线法计算各样品中所含三萜的含量,结果见表 3 和图 2。

通过对不同产地中 12 种三萜成分含量测定发现,不同产地中所含三萜类成分在组成和含量上有显著差异。以福建的茵草鹿角状灵芝中的灵芝酸含量最高,野生灵芝中灵芝酸含量较低;栽培灵芝 12 种灵芝酸中灵芝酸 A 所占比例最高,FJ、ZJ、AH、JL-1 灵芝品种中灵芝酸 A 分别占灵芝酸总量

表 2 三萜类成分加样回收率实验结果
Table 2 Determination on recoveries of triterpenoids

三萜化合物 Triterpenoids	精密度 Precision (%)	重复性 Repeatability (%)	稳定性 Stability (%)	平均回收率 Recovery (%)	RSD (%)
灵芝酸 C ₂ Ganoderic acid C ₂	1.38	0.37	2.34	102.98	0.75
灵芝酸 G Ganoderic acid G	0.37	1.36	1.13	100.38	1.63
灵芝稀酸 B Ganoderenic acid B	0.50	0.42	1.03	102.49	1.28
灵芝酸 B Ganoderic acid B	1.80	0.36	1.47	102.10	1.18
灵芝酸 A Ganoderic acid A	0.58	0.77	1.34	97.31	1.38
灵芝酸 D Ganoderic acid D	0.53	0.37	0.73	101.28	2.40
灵芝酸 F Ganoderic acid F	1.70	0.38	0.82	99.53	1.84
灵芝酮三醇 Ganodermanontriol	0.15	0.36	2.41	101.11	2.76
灵芝酸 DM Ganoderic acid DM	0.31	0.56	2.08	100.20	0.94
灵芝酸 S Ganoderic acid S	1.03	0.34	0.69	101.83	1.32
灵芝酸 T Ganoderic acid T	1.06	0.43	1.77	100.57	0.60
灵芝醇 B Ganoderiol B	1.58	1.26	1.15	100.53	1.53

表 3 不同产地灵芝子实体中三萜类成分含量测定
Table 3 Determination of triterpenoids in *G. lingzhi* from different areas (μg/g)

样品名称 Sample	FJ	ZJ	AH	JL-1	JL-2	JL-3
灵芝酸 C ₂ Ganoderic acid C ₂	266.70±0.57	205.26±0.95	111.44±0.80	174.92±2.92	—	—
灵芝酸 G Ganoderic acid G	283.26±1.28	330.11±0.33	45.67±0.90	159.68±2.97	—	—
灵芝稀酸 B Ganoderenic acid B	180.78±0.37	201.82±0.97	53.49±0.32	35.53±0.44	—	—
灵芝酸 B Ganoderic acid B	326.45±0.84	231.51±1.40	60.94±0.37	231.98±0.66	—	—
灵芝酸 A Ganoderic acid A	1 716.97±0.35	1 904.63±0.69	591.74±0.83	803.04±0.79	29.21±0.96	—
灵芝酸 D Ganoderic acid D	926.91±1.28	749.27±0.66	224.54±2.44	420.36±0.57	—	—
灵芝酸 F Ganoderic acid F	1 591.44±0.45	529.33±0.72	366.10±3.03	542.14±0.65	14.79±0.46	36.14±0.59
灵芝酮三醇 Ganodermanontriol	630.54±0.07	141.92±0.95	25.08±0.22	178.61±0.78	51.88±1.04	186.91±0.08
灵芝酸 DM Ganoderic acid DM	614.94±1.39	191.95±1.16	132.77±2.86	215.45±3.25	126.47±0.56	122.46±1.09
灵芝酸 S Ganoderic acid S	168.79±0.75	219.17±0.92	15.61±1.45	17.29±0.13	23.36±0.63	18.18±0.71
灵芝酸 T Ganoderic acid T	15.98±1.27	41.25±0.68	113.22±1.11	5.47±1.02	11.56±1.00	5.14±0.39
灵芝醇 B Ganoderiol B	316.13±0.26	129.43±0.87	11.32±1.22	58.11±0.92	39.28±0.50	33.27±0.18
总量 Total amount	7 248.83±0.72	4 875.64±2.36	1 751.92±1.14	2 842.58±0.98	296.55±1.15	402.10±0.09

注:数据均为两次测定的平均值±标准差;—:代表未检出。

Note: All results are means of three determinations; —: Not detected.

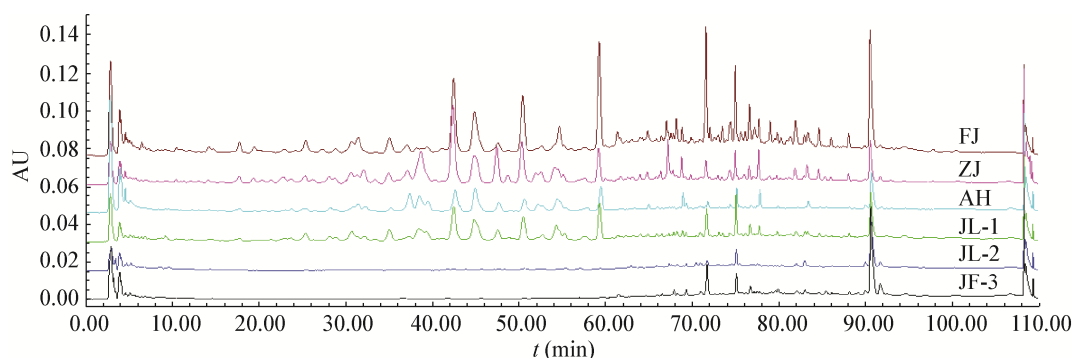


图 2 不同产地灵芝子实体的 HPLC 图谱

Figure 2 Chromatogram of the *G. lingzhi* from different areas

的 23.69%、39.06%、33.78%、28.25%；同时比较了从吉林省收集的野生灵芝中三萜的含量,结果发现,所收集的野生灵芝中仅含有少量的灵芝酸 F、灵芝酮三醇、灵芝酸 DM、灵芝酸 S、灵芝酸 T、灵芝酸 B, JL-2 中检测出少量的灵芝酸 A。

3 讨论

目前,国内外文献对灵芝酸 D、灵芝酸 F、灵芝酮三醇的 HPLC 测定报道较少。本文在张圣龙^[22]实验方法的基础上开发了包含这 3 种三萜成分在内同时测定灵芝酸 C₂、灵芝酸 B、灵芝酸 A、灵芝酮三醇 GT-2、灵芝酸 DM、灵芝酸 T、灵芝醇 B、灵芝酸 S、灵芝酸 G、灵芝酸 F、灵芝酸 D、灵芝稀酸 B 等 12 种三萜成分的高效液相色谱法。此方法涉及到中草药与食药食用菌中 12 种常见的三萜类成分,与目前关于灵芝子实体中三萜类成分测定的高效液相色谱法相比,本研究测定的三萜类成分种类多、分离度高、覆盖面广,具有较强的代表性、参考性和实用价值。方法学考察结果显示,该方法灵敏度高、重复性与稳定性好,适用于灵芝子实体中 12 种三萜类成分的测定分析,为评价灵芝子实体的质量提供了测定方法和手段。

三萜类成分是评价灵芝质量的指标之一,通过分析比较发现不同来源的灵芝三萜含量差别较大,高达 3 倍以上,这可能与多种因素有关。开发保健食品等新产品要选择活性较高的原料,本文可为新产品的开发提供借鉴。同时我们发现吉林长白山上

采集的野生灵芝与吉林的栽培灵芝相比,三萜含量远远低于栽培灵芝,总三萜的含量仅为栽培灵芝的十分之一。所测原料中,如果从三萜含量来评定灵芝的质量,野生灵芝的价值要低于栽培灵芝,是否野生灵芝在其他成分方面有差异,还需进行进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Dai YC, Cao Y, Zhou LW, et al. Notes on the nomenclature of the most widely cultivated *Ganoderma* species in China[J]. *Mycosystema*, 2013, 32(6): 947-952 (in Chinese)
戴玉成, 曹云, 周丽伟, 等. 中国灵芝学名之管见[J]. *菌物学报*, 2013, 32(6): 947-952
- [2] Cao Y, Wu SH, Dai YC. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom "Lingzhi"[J]. *Fungal Diversity*, 2012, 56(1): 49-62
- [3] Shao LP, Shen RX, Zhang SX, et al. *Fungus Taxonomy*[M]. Beijing: Forestry, 1983 (in Chinese)
邵力平, 沈瑞祥, 张素轩, 等. *真菌分类学*[M]. 北京: 中国林业出版社, 1983
- [4] Zhang XY, Yang CQ. The chemical composition and pharmacological action of *Ganoderma lucidum*[J]. *Foreign Medical Sciences (Herbal Drug)*, 2006, 21(4): 152-155 (in Chinese)
张晓云, 杨春清. 灵芝的化学成分和药理作用[J]. *国外医药(植物药分册)*, 2006, 21(4): 152-155
- [5] Feng DJ. The chemical composition, efficacy and pharmacological action of *Ganoderma lucidum*[J]. *Special Economic Animal and Plant*, 2006, 9(8): 39-40 (in Chinese)
冯道俊. 灵芝的化学成分、功效及药理作用[J]. *特种经济动植物*, 2006, 9(8): 39-40
- [6] Gan WW, Chang JD. Study on extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* using response surface methodology[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2009(1): 259-262 (in Chinese)
干伟伟, 常继东. 灵芝多糖提取条件的响应曲面法优化研究[J]. *江苏农业科学*, 2009(1): 259-262
- [7] Lin ZB. *Modern Research of Ganoderma Lucidum*[M]. 3rd Edition. Beijing: Medical Publishing House of Peking University, 2007: 199-244 (in Chinese)

- 林志彬. 灵芝的现代研究[M]. 3 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2007: 199-244
- [8] Chen RY, Yu DQ. Advances in studies on chemical constituents on *Ganoderma* triterpene[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1990, 25(12): 940-953 (in Chinese)
陈若芸, 于德泉. 灵芝三萜化学成分研究进展[J]. 药学报, 1990, 25(12): 940-953
- [9] Kubota T, Asaka Y, Miura I, et al. Structures of ganoderic acid A and B, two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst[J]. Helvetica Chimica Acta, 1982, 65(2): 611-619
- [10] Huang YJ, Xiao GL. The progress of pharmacology on ganoderma triterpene[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2008, 14(9): 87-88,97 (in Chinese)
黄艳娟, 肖桂林. 灵芝三萜药理学作用研究进展[J]. 中医药导报, 2008, 14(9): 87-88,97
- [11] Xu JW, Zhao W, Zhong JJ. Biotechnological production and application of ganoderic acids[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 87(2): 457-466
- [12] Fu LZ, Wu XQ, Li MY, et al. Crude polysaccharide and triterpene content of ganoderma fruit bodies at different stages of development[J]. Acta Edulis Fungi, 2008, 15(3): 47-50 (in Chinese)
付立忠, 吴学谦, 李明焱, 等. 灵芝不同生长发育期粗多糖和三萜含量变化规律[J]. 食用菌学报, 2008, 15(3): 47-50
- [13] Fu LZ, Wu XQ, Li MY, et al. Analysis and evaluation of polysaccharides and triterpenes contents of fruitbody of *Ganoderma lucidum* strains[J]. Edible Fungi of China, 2009, 28(4): 38-40 (in Chinese)
付立忠, 吴学谦, 李明焱, 等. 灵芝品种子实体多糖和三萜含量分析与评价[J]. 中国食用菌, 2009, 28(4): 38-40
- [14] Dong HL, Xia GP, Zhao NX, et al. Quantitative analysis of ganoderic acid C₂, G, and A in sporophore and spore powder of *Ganoderma* by HPLC[J]. Drugs & Clinic, 2013, 28(1): 41-43 (in Chinese)
董虹玲, 夏广萍, 赵娜夏, 等. HPLC 法测定灵芝子实体和孢子粉中灵芝酸 C₂、灵芝酸 G 和灵芝酸 A[J]. 现代药物与临床, 2013, 28(1): 41-43
- [15] Xing ZT, Yu QH, Zhang JS, et al. Comparative study on triterpenes in different *Ganoderma* species[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2004, 27(8): 575-576 (in Chinese)
- 邢增涛, 郁琼花, 张劲松, 等. 不同品种灵芝中三萜类化合物的比较研究[J]. 中药材, 2004, 27(8): 575-576
- [16] Li BM, Gu HF, Li Y, et al. Determination of nine triterpenoid acids from *Ganoderma lucidum* of different producing areas by HPLC[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2012, 37(23): 3599-3603 (in Chinese)
李保明, 古海锋, 李晔, 等. HPLC 测定不同产地灵芝中 9 种三萜酸[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3599-3603
- [17] Ma L, Wu F, Chen RY. Analysis of triterpene constituents from *Ganoderma lucidum*[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2003, 38(1): 50-52 (in Chinese)
马林, 吴丰, 陈若芸. 灵芝三萜成分分析[J]. 药学报, 2003, 38(1): 50-52
- [18] Wang XM, Yang M, Guan SH, et al. Quantitative determination of six major triterpenoids in *Ganoderma lucidum* and related species by high performance liquid chromatography[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(3): 838-844
- [19] Li BM, Liu C, Wang HQ, et al. Study on determination method of total triterpen acid content of *Ganoderma lucidum*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32(12): 1234-1236 (in Chinese)
李保明, 刘超, 王洪庆, 等. 灵芝总三萜酸含量测定方法的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(12): 1234-1236
- [20] Wang XJ, Lin HB, Xu J, et al. Determination of concentrations of triterpene constituents and polysaccharides in *Ganoderma* by HPLC and UV-VIS[J]. Contemporary Medicine, 2009, 15(31): 128-130 (in Chinese)
王筱婧, 林焕冰, 徐江, 等. HPLC 法和 UV-VIS 法测定灵芝孢子粉中灵芝三萜及灵芝多糖的含量[J]. 当代医学, 2009, 15(31): 128-130
- [21] Yao SJ. Study on technology of ultrasonic extraction of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and its fingerprint method[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China University of Technology, 2010: 44-64 (in Chinese)
姚松君. 灵芝三萜的超声波提取工艺及其指纹图谱检测方法的研究[D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2010: 44-64
- [22] Zhang SL. Studies on active ingredients and fingerprint of *Ganoderma*[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui University of Chinese Medicine, 2013: 31-43 (in Chinese)
张圣龙. 灵芝活性成分及其指纹图谱研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学硕士学位论文, 2013: 31-43