

Xinjiang Uygur Autonomous Region and *R. sachalinensis* from Jilin Province are two species with higher contents of the marker ingredients

References

- [1] Deng G C, Du N S, Sun D S. The current R&D situation of *Rhodiola* L. [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药), 1994, 11(4): 47-51.
- [2] Markus G, Yurdanur Y. Analysis of the marker compounds of *Rhodiola rosea* L. by RP-HPLC [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(4): 465-467.
- [3] Kiryanov A A. Determining biologically active components of *Rhodiola rosea* rhizomes [J]. *Khim Prirod Wodinenii*, 1991 (3): 320-324.
- [4] Satsyperova I F. Biologically active substances in rhizomes of *Rhodiola rosea* L. [J]. *Introduced in St. Petersburg, Rastitel'nye Resursy*, 1993, 29(2): 26-31.
- [5] Maslowa L V. Pharmacological active compounds in *Rhodiola* [J]. *Exp Clin Pharm*, 1994, 57(1): 61-63.
- [6] Gemmano C, Ramazanov Z. *Artic Root Rhodiola rosea—The Powerful New Ginseng Alternative* [M]. New York: Kensington Press, 1999.
- [7] Bocharova O A. The effect of *Rhodiola rosea* extract on incidence rate of superficial bladder carcinoma relapses [J]. *Urol Nefrol*, 1995 (2): 46-47.
- [8] Ming H Q, Xia G Q, Zhang R J. The research progress of *Rhodiola* L. [L]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1988, 19(5): 37-43.
- [9] Wan S, You X T, Wan T P. Analysis of salidroside in *Rhodiola* L. by RP-HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1992, 27(11): 849-852.

超声循环提取灵芝中三萜类化合物的研究

黄书铭¹, 杨新林^{1*}, 张自强¹, 徐建兰² 朱鹤荪^{3*}

(1. 北京理工大学生命科学与技术学院, 北京 100081; 2. 无锡市三联高科技开发有限公司, 江苏 无锡 214023; 3. 北京理工大学 材料科学研究中心, 北京 100081)

摘要: 目的 研究超声循环技术在灵芝中三萜类化合物提取中的应用。方法 在常规提取方法的基础上, 增加超声循环的处理步骤。结果 通过试验对比, 超声循环提取所需各种溶剂用量减少, 提取时间缩短, 目的产物提取率提高了 40%。与常规方法提取得到的目的产物之间存在着良好的相关性。结论 超声循环技术用于灵芝中三萜类化合物的提取具有良好的应用前景。

关键词: 灵芝; 三萜类化合物; 超声循环技术; 高效液相色谱

中图分类号: R 284. 2; R 286. 02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)05-0508-03

Study on ultrasonic circulation technique to extraction of triterpenoids from *Ganoderma lucidum*

HUANG Shu-ming¹, YANG Xin-lin¹, ZHANG Zi-qiang¹, XU Jian-lan², ZHU He-sun³

(1. School of Life Science and Technology; 2. Sanlian Hi-Tech Limited Company, Wuxi 214023, China;

3. Research Center of Material Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: **Object** To study the application of ultrasonic circulation technique for the extraction of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr.) Karst. **Methods** On the basis of conventional method, the processing steps of ultrasonic circulation treatment were added. **Results** The comparative experiments showed that less amounts of various solvents and shorter extraction time were needed for ultrasonic circulation extraction, with the product ratio of about 40 percent higher than that of conventional method. Furthermore, a good consistency of the target product analyzed by HPLC was found between two different extraction methods. **Conclusion** The ultrasonic circulation technique has a potential application to the extraction of triterpenoids from *G. lucidum*.

Key words: *Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr.) Karst; triterpenoids; ultrasonic circulation technique; HPLC

灵芝在我国已有两千多年的药用历史。近年来, 从灵芝的子实体、孢子和菌丝体所提取的三萜类化

合物组份 (triterpenoid components) 已被证实具有抗肿瘤、免疫调节等作用^[1-4]。灵芝三萜类化合物的

* 收稿日期: 2003-10-08

基金项目: 国家重点科技项目(攻关)计划

作者简介: 黄书铭(1963—), 男, 安徽省六安市人, 蚌埠高等专科学校副教授, 北京理工大学在职博士生。E-mail: smh519@bit.edu.cn

* 通讯作者 Tel: (010) 68911949 Fax: (010) 68911040 E-mail: xlyang@bit.edu.cn

提取方法文献报道有采用甲醇或乙醇为溶剂提取,提取物经碱处理分出总酸部分再进行分离^[5]。该总酸组份(醇溶酸性组份)具有较强的抗肿瘤活性,对肝肿瘤的抑制作用尤为明显^[6]。超声循环技术指在提取过程中使料液循环流动的同时施加超声波,以达到加快提取进程的目的。本实验将超声循环技术应用到灵芝三萜类化合物的提取工艺中,取得了很好的效果。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料: 超声循环提取设备(北京弘祥隆有限责任公司), RE—52 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), 惠普 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

灵芝子实体精粉(100~200目,产地山东泰安),由无锡市三联高科技开发有限公司提供,药材经北京理工大学杨新林教授鉴定为赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr.) Karst 的干燥子实体。甲醇、醋酸为色谱纯,无水乙醇、三氯甲烷、碳酸氢钠等均为分析纯。

1.2 常规方法提取^[7]: 称取粉碎、烘干的灵芝子实体精粉 250 g,加入 3.75 L 无水乙醇浸提 24 h,滤过,40~45℃减压浓缩,蒸干得黑色浸膏 8.625 g。浸膏溶于 250 mL 氯仿中,加入 1.25 mL 饱和 NaHCO₃ 溶液萃取,充分振荡,静置,收集上层液。下层氯仿部分再加 125 mL 饱和 NaHCO₃ 溶液萃取,收集上层溶液。合并碱提液,冷却至 0℃,用 6 mol/L 冷盐酸酸化至 pH 3~5,酸化液用氯仿-原液(1:1)萃取两次,收集氯仿溶部分(约 1.0 L)减压浓缩,蒸干,得淡黄色粉状固体。

1.3 超声循环提取

1.3.1 超声循环浸提: 称取灵芝子实体精粉 250 g,按灵芝精粉(g)和无水乙醇(mL)投料比为 1:8,在超声循环设备中加入无水乙醇,边循环边加入灵芝精粉,浸提温度 30℃,循环速度 21 r/s。投料结束后施加超声波浸提,超声功率 800~1 000 W。全程浸提时间为 30 min,每次超声提取时间 2 s,间歇时间 0.5 s。用自制装备滤过灵芝粉渣,料液减压浓缩至干。

1.3.2 超声循环萃取: 将 1.3.1 项所得的黑色浸膏 12.5 g 用 125 mL 氯仿循环搅拌 2 min,待充分溶解后,再加入等量饱和 NaHCO₃ 溶液进行超声循环,循环速度 21 r/s,超声功率 800~1 000 W,温度 30℃,全程时间 12 min,工作时间 2 s,间歇时间 0.5 s。碱提 2 次,每次碱提后静置 30 min。合并黄色碱提液,在循环条件下(速度 21 r/s)用 6 mol/L 冷盐酸

调 pH 至 3.50~4.00。将酸化液分别用 250 mL 氯仿超声循环萃取 2 次,循环速度 21 r/s,超声功率 800~1 000 W,温度 30℃,全程工作时间 5 min,工作时间 2 s,间歇时间 0.5 s。萃取 2 次,每次萃取后静置 30 min。收集氯仿层,减压浓缩,干燥,得淡黄色固体。

1.4 HPLC 检测

1.4.1 供试品溶液的制备: 精密称取适量按常规方法和循环超声方法提取的同一批样品各 5 份,分别用甲醇配成 1 mg/mL 溶液,0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

1.4.2 色谱条件: Zorbax 300 SB-C₁₈ 分析柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为 5% 醋酸-甲醇(60:40),检测波长 252 nm,进样量 10 μL,流速 0.8 mL/min,柱温 40℃。

2 结果与讨论

2.1 目的产物比较: 在相同的检测条件下,不同的提取方法所得到的产物的 HPLC 图谱见图 1。可见两者色谱峰数均为 15 个,其中峰面积占总峰面积 5% 以上的主要色谱峰,其保留时间超声循环的为 16.803, 19.033, 21.468, 22.461, 24.333, 31.083, 35.222, 39.444 min, 常规方法的为 16.837, 19.038, 21.521, 22.501, 24.367, 31.084, 36.216, 39.396 min。结果表明,这两种提取方法所得产物的 HPLC 保留时间相关性较好,色谱峰峰形极其相似。

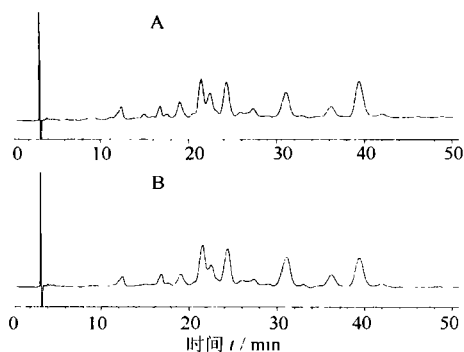


图1 超声循环(A)和常规方法(B)提取的灵芝三萜类化合物的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of triterpenoids extracted by ultrasonic circulation (A) and conventional method (B) from *G. lucidum*

采用 HPLC 分别检测了超声循环提取和常规方法提取的三萜类化合物各 5 个样品,经比较和计算,峰面积占总峰面积 5% 以上的主要色谱峰,其峰面积百分数均在 70% 以上,RSD 在 3% 以内。结果表明,利用超声循环分离灵芝中三萜类化合物的方

法,能最大限度地保留原料中的活性组份,提取到的目的产物和常规方法相同。

2.2 提取率比较:见表 1。表 1 显示,与常规提取方法比较,超声循环提取所需 3 种溶剂的用量均大大减少,乙醇浸提时间也从 24 h 缩短到 0.5 h。由于采用超声循环提取技术,使灵芝药材中的有效成分得以充分释放,从而使目标产物的提取率提高,与常规提取方法比较,灵芝浸膏及其目的产物提高率分别为 44.9% 和 40%,大大地降低了提取的成本,提高了设备利用率。

表 1 常规方法与超声循环提取灵芝中三萜类化合物的比较

Table 1 Comparison of triterpenoids extracted by conventional method and ultrasonic circulation from *G. lucidum*

方 法	乙醇用 量/L	氯仿用 量/L	碳酸氢 钠/L	乙醇浸提 时间/h	浸膏得 率/%	产物得 率/%
常规方法	3 75	1 250	0 50	24	3 45	0 65
超声循环	2 00	0 625	0 25	0 5	5 00	0 92

3 结论

将超声循环技术应用到灵芝中三萜类化合物的提取,可以降低生产成本,缩短生产周期,提高产品

得率。因此,本实验所建立的提取工艺具有很好的应用前景。

致谢:北京弘祥隆有限责任公司董志海工程师提供咨询和超声设备调试。

References

- [1] Zhu H S, Yang X L, Wang L B, et al. Effects of extracts from sporodem-broken spores of *Ganoderma lucidum* on HeLa cells [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2000, 16: 201-206.
- [2] Hu H B, Ahn N S, Yang X L, et al. *Ganoderma lucidum* extract induces cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cell [J]. *Int J Cancer*, 2002, 102: 250-253.
- [3] Lin C N, Tome W P, Won S J. Novel cytotoxic principles of Fomosan *Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(4): 998-1002.
- [4] Koyama K, Maizui T, Akiba M, et al. Antinociceptive components of *Ganoderma lucidum* [J]. *Planta Med*, 1997, 63 (3): 224-227.
- [5] Chen R Y, Yu D Q. Advances of chemical components of triterpenes from *Ganoderma lucidum* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 1990, 25(12): 940-953.
- [6] Yang X L, Wang B W, Huang S M, et al. Effects of ESAC from *Ganoderma lucidum* on hepatoma growth [J]. *China J Cancer Prev Treat (中国肿瘤防治杂志)*, 2002, 9(5): 152-153.
- [7] Huang S M, Yang X L, Wang B W, et al. Study on preparation and measurement methods of ESAC from *Ganoderma lucidum* [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2003, 28(4): 332-334.

球状活性炭对几类中药有效成分的吸附性能研究

韩泳平, 王曙宾, 向永臣, 李张宇, 谢秀琼*

(成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075)

摘 要:目的 研究球状活性炭对几类中药成分的静态吸附性能,探讨其应用于中药精制的可行性。方法 对适宜的高分子树脂进行炭化、活化处理,制备球状活性炭。测定静态吸附条件下球状活性炭对目标成分的吸附等温线,并运用 Langmuir 单层分子吸附模型对实验数据进行计算机拟合,求出实验条件下吸附剂的表现吸附容量和平衡状态下的理论吸附容量。同时考察 75% 乙醇溶液的洗脱效果。结果 球状活性炭对盐酸小檗碱和薯蓣皂苷的表现吸附容量以干基计分别为 35.46, 47.12 mg/g, 相应的理论平衡吸附容量为 96.16, 102.04 mg/g, 对芦丁的表现吸附量也达到 40.88 mg/g。3 种成分的静态洗脱率分别为 83.71%, 91.45% 和 87.69%。结论 球状活性炭对生物碱、黄酮和皂苷类物质有良好的吸附与洗脱性能,适于在中药精制纯化中推广应用。

关键词: 球状活性炭; 小檗碱; 芦丁; 薯蓣皂苷; 吸附; 解吸

中图分类号: R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)05-0510-04

Study on adsorptive properties of spherical activated carbon on several kinds of active ingredient from Chinese materia medica

HAN Yong-ping, WANG Shu-bin, XIANG Yong-chen, LI Zhang-yu, XIE Xiu-qiong

(School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract: Object To study the adsorptive properties of spherical activated carbon on some effective

* 收稿日期: 2003-07-22

基金项目: 国家人事部博士后课题资助项目

作者简介: 韩泳平,男,副教授,中药学博士后,曾于 2001 年 9 月—2002 年 9 月赴日本东京大学进修,研究方向为天然药物及中成药研究。Tel: (028) 85521206 E-mail: yphan65@hotmail.com