



灵芝三萜类化合物的研究进展

李晔^{1*}, 朱忠敏¹, 姚渭溪¹, 陈若芸²

(1. 福建仙芝楼生物科技有限公司 国家食用菌加工技术研发分中心,
福建省药用菌工程研究中心, 福建 福州 350002;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

【摘要】 作者综述了近年来国内外有关灵芝三萜类化合物的提取纯化工艺、化学成分及含量分析的研究现状及进展。灵芝三萜类化合物是灵芝中一种重要的药用活性成分,但是由于它在灵芝中的含量低,提取和纯化工艺复杂,目前高纯度的灵芝三萜类化合物的制备量小,依然处在实验室的研究规模,因此,该文进一步探讨了制备灵芝三萜类化合物的产业化技术,旨在进一步推动灵芝产业的快速发展,为其作为保健食品、药品的研究和生产提供科学依据。

【关键词】 灵芝;三萜类化合物;提取纯化;含量分析

灵芝 *Ganoderma lucidum* 是一种大型药用真菌,属于担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌,包括赤芝 *G. lucidum* (Levss. ex Fr.) 和紫芝 *G. sinense* 的干燥子实体^[1]。始载于《神农本草经》,历代医书将其列为上品,具有补中益气、滋阴强壮、扶正固本、延年益寿等功效。灵芝是《中国药典》收录的一种中药材,是食药兼用的一种真菌,灵芝中的多糖、三萜、核苷、生物碱、氨基酸多肽、微量元素等成分是其药效物质基础,其中三萜和多糖是灵芝最主要的两大活性成分。现代药理研究表明,灵芝三萜类化合物具有保肝、抗肿瘤、抗 HIV-1 及 HIV-1 蛋白酶活性、抗组织胺释放、抑制血管紧张素、抗氧化等作用^[2-12]。

20 世纪 80 年代,国内外研究者开始深入研究灵芝化学成分,并取得一定的成效,迄今为止,已成功分离出 200 多种化合物^[13-14],并进行了分子结构鉴定。但是,这些工作都是在实验室进行的,得到的化合物量非常少,只能开展色谱分析、分子结构鉴定和体外细胞水平的药理活性筛选等研究工作,而难以开展药理学、药效学和毒理学的深入研究,极大影响灵芝三萜的继续开发和利用。因此,研究三萜类化合物的提取纯化的产业化工艺技术具有重要的理论意义和实践意义。本文重点介绍了灵芝三萜类化合物提取纯化工艺、化学成分及含量分析的国内外研究现状及进展,探讨了产业化制备灵芝三萜类成分的工艺技术,旨在进一步推动灵芝产业的快速发展,并为保健食品、药品的研究和生产提供科学依据。

1 灵芝三萜类化合物的提取

1.1 溶剂提取法 灵芝三萜化合物结构相似,难溶于水、易溶于有机溶剂、性质不稳定,因此分离和纯化的难度比较大。一般常用甲醇、乙醇、氯仿或乙酸乙酯等有机溶剂在常温或高温下回流提取。溶剂不同提取效果差异明显。侯敏娜等^[15]采用正交试验方法研究了灵芝三萜的最佳提取方法,得出最佳的提取工艺为 5 倍量 95% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.5 h,再用硅胶色谱柱分离,紫外分光光度法测定了灵芝中总三萜类化合物的含量为 9.07%。Iksoo Lee 等^[16]用甲醇回流提取灵芝三萜类,甲醇浸膏用水溶解,经正己烷和氯仿反复萃取得到三萜类粗提物,提取率 2%。Wang X M 等^[17]将灵芝子实体经 95% 乙醇回流提取,所得浸膏经碱提酸化后用二氯甲烷萃取出,浓缩得三萜酸浸膏,提取率 1.13%。Sri Fatmawati 等^[18]将灵芝子实体在室温下用氯仿提取 3 次,24 h,所得浸膏经碱提酸化后再由氯仿萃取得到三萜酸浸膏,提取率 1.99%。

1.2 超声提取法 从灵芝子实体或孢子粉中提取三萜类物质时,溶剂回流提取法因受其结构影响,花费时间较长。而采用超声波处理能破坏灵芝的致密结构,使提取时间相比溶剂提取缩短一半以上^[19-23],目前已得到广泛应用。张亮等^[20]用超声波辅助法,通过正交试验研究了灵芝三萜的提取,得到最优的灵芝三萜提取工艺为乙醇用量 30 倍,提取温度 60 ℃,提取时间 60 min,用碱醇(无水乙醇加碱)调 pH 8.5,可以明显提高乙醇提取灵芝三萜的能力。弓晓峰等^[21]通过对黑灵芝的溶剂提取法和超声提取法对比研究,得出在相同的提取时间内,溶剂回流的提取率(0.929 4%)低于超声的提取率(1.43%)。Somayeh Keypour 等^[22]和 Liu Y L 等^[23]采用超声波辅助提取,以氯仿为提取溶剂,提取液过滤后浓缩得三萜类浸膏,其提取率在 1% ~ 1.5%。

1.3 微波辅助提取法 微波提取技术是近年来发展起来的新型提取技术,具有选择性高、耗时少、能耗低、排污量少等

【稿件编号】 20110614010

【基金项目】 科技部科技基础性工作专项重点项目(2007FY130100)

【通信作者】 *李晔,食品工程师,福建省食用菌学会第三届理事会副理事长,长期从事食用菌的研究与开发, Tel: (0591) 83053398, Fax: (0591) 83053396, E-mail: lee@xianzhilou.com



优点,是目前天然产物提取的创新技术。该技术是利用产生的高频电磁波,穿透组织外层结构而迅速到达组织内部,使组织内部温度和压力迅速上升,导致细胞破裂,有效成分自由流出的技术。黄霄云等^[24]利用微波技术研究灵芝三萜类的提取工艺,得到最佳的工艺条件为:乙醇体积分数75%、提取温度75℃、功率870W、液料比33 mL·g⁻¹、时间17 min,在此条件下灵芝三萜的平均提取率为1.043%,而其他未经微波处理的超声法、回流法、浸提法的提取率分别为0.617%、0.899%、0.658%。Chen Y等^[25]通过对黑灵芝中三萜类成分提取工艺的研究,分别比较了微波提取法和浸提法、回流提取法、超临界CO₂流体萃取法和超声提取法,得出微波提取为最优的提取方案,其最佳提取工艺为25倍量的95%乙醇作溶剂、提取温度90℃、微波功率800W、提取时间5 min,总三萜提取率为5.11%,其中三萜皂苷提取率为0.968%。其他几种提取法的提取效果见表1。

表1 微波法及其他提取方法提取率比较^[25]

Table 1 Comparison of extraction rates of microwave method and other methods

| 方法 | 提取时间 | 溶剂 | 料液比 | 三萜类提取率/% |
|-----------------------|--------|----------------------|-----|----------|
| 浸提 ^[25] | 12 h | 95%乙醇 | 40 | 2.58 |
| 超声 ^[25] | 30 min | 95%乙醇 | 60 | 1.72 |
| 加热回流 ^[25] | 2 h | 95%乙醇 | 40 | 2.22 |
| 超临界提取 ^[25] | 3 h | CO ₂ + 乙醇 | - | 1.52 |
| 微波 ^[25] | 5 min | 95%乙醇 | 25 | 5.11 |

1.4 超临界CO₂提取法 超临界CO₂提取(supercritical fluid carbon dioxide extraction)技术是一项把萃取和分离合二为一的新型技术,该技术与传统的化学溶剂提取法相比,不仅工艺简单、能耗低,活性成分不易被破坏,而且具有无污染、无化学溶剂消耗和残留的优点,被称为绿色生物萃取分离技术^[26-27]。

宋师花等^[28]用超临界CO₂提取灵芝子实体,测定了3批灵芝子实体总三萜的平均值:总三萜为1.176%,灵芝酸B为0.053%,固形物为2.024%。张洁^[29]用超临界CO₂提取灵芝子实体中三萜化合物,用HPLC测定灵芝酸含量,结果表明用超临界CO₂提取和用甲醇提取的提取物,在相同HPLC检测条件下得到的色谱图,具有相似的峰形,说明超临界CO₂可以代替甲醇作为新一代的绿色萃取溶剂。陈燕等^[30]建立超临界CO₂提取法提取和纯化灵芝孢子粉中总三萜化合物的最佳工艺条件,通过正交试验得到最佳的工艺条件为:萃取压力22 MPa,萃取温度50℃,萃取时间2 h。总三萜化合物提取率为17.6%。贾晓斌等^[31]通过对超临界CO₂提取法和醇回流提取法所提取灵芝三萜类成分的研究,以灵芝酸B计算,得出超临界CO₂提取法和传统的醇回流提取法提取效果相似,提取率分别为0.133%、0.126%。Ruey等^[32]分别考察了改性剂、温度以及压力对提取率的影响,并与传统的溶剂法进行比较,比

较的结果是超临界CO₂提取法的提取温度较低且得率较高,提取率为1.72%。廖幼鸣^[33]等用超临界CO₂加10%~20%的乙醇夹带剂直接从灵芝子实体提取灵芝三萜酸,提取物中灵芝三萜酸的含量达42.5%。钱律余^[34]将灵芝子实体和灵芝孢子用食用酒精浸润后,再加入30%~50%的食用酒精的夹带剂,做超临界CO₂提取,提取物中三萜含量达18.16%。

2 灵芝三萜类化合物的纯化

目前,对提取物中三萜类化合物的分离纯化,大多是通过一种或几种层析法反复富集纯化,结合液相制备色谱或结晶等分离技术达到分离提纯的效果。

Sri Fatmawati等^[18]将灵芝子实体用氯仿提取,碱提酸化、再用氯仿提取,旋蒸得三萜酸浸膏;所得浸膏经硅胶柱色谱富集纯化,氯仿-甲醇、二氯甲烷-甲醇梯度洗脱;目标组分由液相制备柱纯化得到灵芝酸Df单体。Chen M等^[35]将赤芝子实体经乙醇回流提取得三萜类粗提物,经硅胶柱层析和Sephadex LH-20凝胶色谱反复富集纯化,分别用石油醚-乙酸乙酯和氯仿-甲醇进行梯度洗脱,得到一个新的化合物灵芝三醇M和灵芝酸ε。陈若芸等^[36]自赤芝孢子粉酸性部分中分离得到灵芝酸A、B、C、E和灵芝三萜。Cheng C R等^[37]将灵芝子实体经95%乙醇回流提取,石油醚、二氯甲烷萃取得三萜类粗提物;粗提物先后由硅胶和Sephadex LH-20富集纯化,洗脱液分别为氯仿-甲醇和石油醚-氯仿-甲醇梯度洗脱;再将所得各组分经重结晶和液相制备柱进一步纯化得到三萜类单体43个,其中6个为新的灵芝三萜类化合物。还有很多研究者通过色谱法和液相制备法也分离纯化得到灵芝三萜类单体^[16-17,38-39]。近年来,大孔吸附树脂在分离纯化方面获得了推广应用,钱竹等^[40]用大孔树脂分离提取发酵液中灵芝三萜类化合物,通过比较不同种大孔吸附树脂,最终得出AB-8树脂最适合灵芝三萜的分离纯化,同时确立了上样的最佳条件为pH 2,体积流量为2 mL·min⁻¹,梯度洗脱,AB-8树脂对灵芝三萜的吸附量达8.837 mg·g⁻¹。

3 灵芝中的新三萜类化合物

20世纪末,从赤芝中分到四环三萜110种,五环三萜2种,从薄盖灵芝中分到五环三萜1种,从树舌中分到五环三萜5种。近10年来,从灵芝属真菌中得到了30余个新的四环三萜化合物^[39-48]。从结构来看,大多为高度氧化的羊毛甾烷衍生物,见图1。

4 灵芝三萜化合物的检测分析

目前,灵芝三萜类的检测方法主要有薄层色谱法(TLC)、紫外分光光度法(UV)、高效液相色谱法(HPLC)。但是由于缺乏灵芝三萜的标准对照品,目前大都采用紫外分光光度法,以齐墩果酸或熊果酸为标准对照品,在紫外波长540 nm测定总三萜的含量。该方法易受杂质干扰,准确度差。由于HPLC检测方法的灵敏度高,准确度高,是灵芝三萜检测方法的发展方向。

4.1 薄层色谱法(TLC) TLC是中药有效成分分析检测中

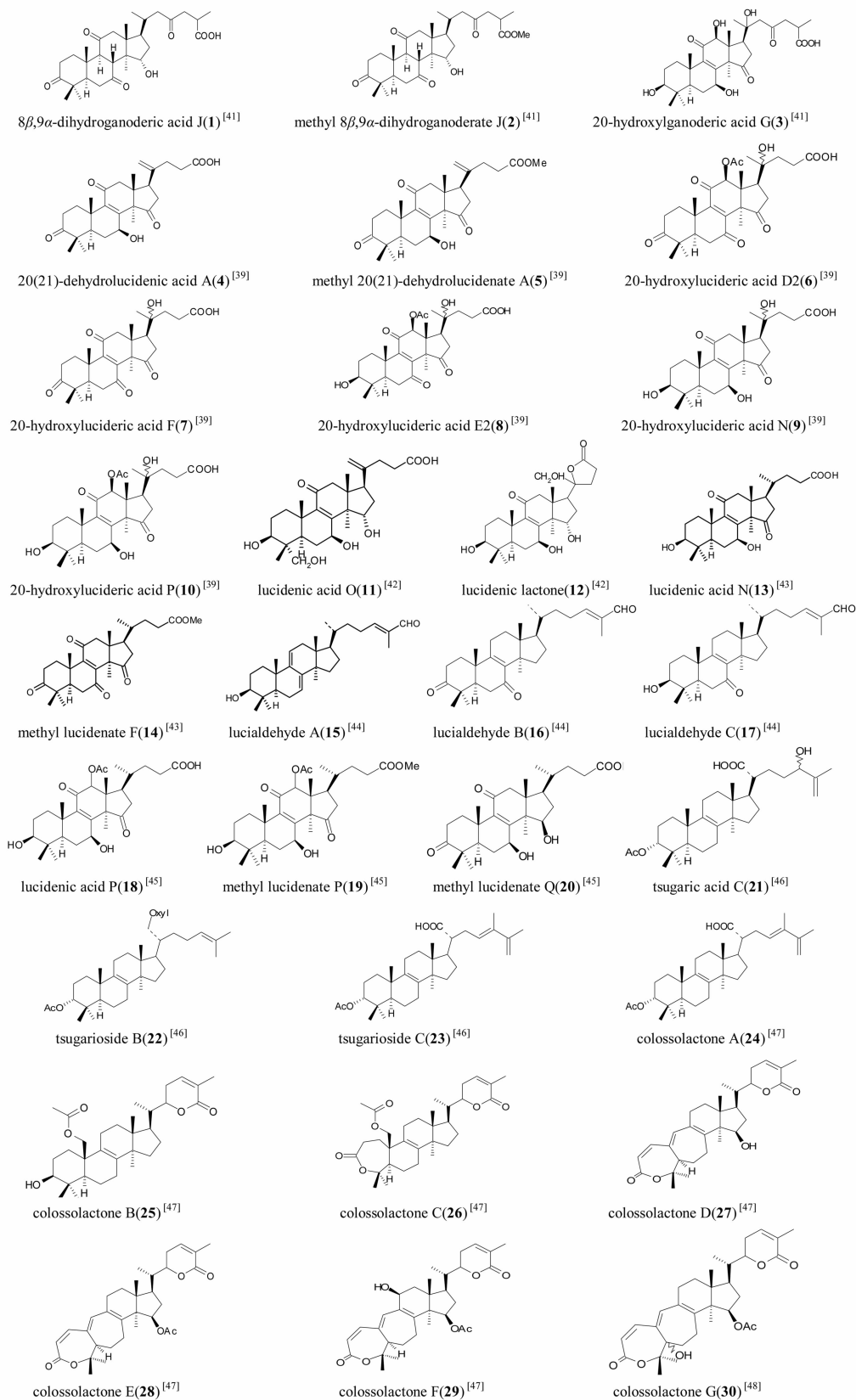


图 1 近 10 年灵芝中新发现的三萜类化合物

Fig. 1 The newfound triterpenes from *Ganoderma lucidum* in recent 10 years



的常规检测方法,其分析快速而简单,兼备了柱色谱和纸色谱的优点。在分析灵芝中三萜类化合物时常用的展开系统有:甲苯-乙酸乙酯-乙酸(13:4:0.4)^[40]、乙酸乙酯-环己烷(7:3)^[48]、石油醚-乙酸乙酯(95:5)^[49]、氯仿-甲醇-水(30:4:1)^[50],一般常用的显色剂为10%硫酸乙醇溶液^[40],加热后,通过观察斑点颜色的变化初步判断灵芝中四环三萜酸的存在。

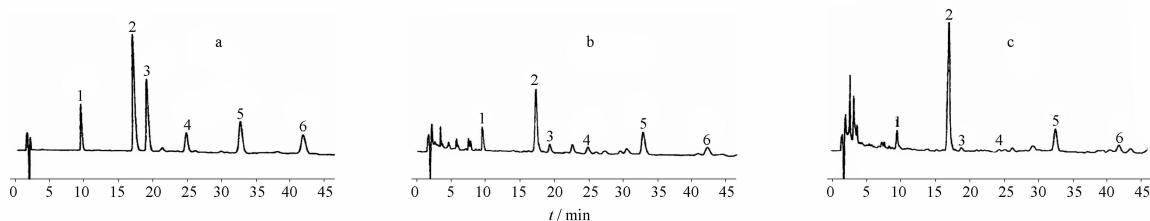
4.2 紫外分光光度法(UV) UV法现被广泛用于不同灵芝中总三萜含量的测定,以自然界中广泛存在的三萜类化合物熊果酸、或齐敦果酸为对照品,以冰醋酸-香草醛和高氯酸显色,进行比色定量,该方法操作简便,但是易受杂质干扰、准确性差。李保明等^[51]用灵芝酸B作对照品,采用比色法测定灵芝中总三萜酸的含量,测定了不同品种的灵芝,其中以野生灵芝中三萜含量最高,达0.343%,赤芝达0.135%~0.258%,而紫芝为0。杨军等^[52]对超临界CO₂萃取灵芝的提取物,用紫外分光光度法测定提取物中总三萜的含量平均为52.79%,提取率为1.16%,Toshihiro Akihisa等^[39]和Naoto Sato等^[53]用UV紫外分光光度法和质谱学方法结合,分别对提取物的分离产物进行结构鉴定,分别得到新的灵芝醇和灵芝酸等三萜化合物。

4.3 高效液相色谱法(HPLC) HPLC检测具有快速、简便、灵敏、分离度好等优点,目前正广泛应用于灵芝三萜类化合

物的分析检测上。李保明等^[54]对灵芝特征谱进行了研究,分析了13批次的赤芝子实体,确定了15个峰分别为灵芝酸A,B,C,C₂,D,E,G,I;赤芝酸A,LM₁;灵芝烯酸A,B,D;灵芝孢子酸A和12-乙酰基-3-羟基-7,11,15,23-四羟基-羊毛甾-8-烯-26-酸。丁平等^[55]用RP-HPLC测定灵芝中6种活性成分:灵芝酸A,B,C₂,E,G和赤芝酸A,获得好的线性和回收率,灵芝酸A,B,C₂,E,G和赤芝酸A的质量分别为0.650~7.800,0.175~2.100,0.206~2.475,0.275~3.300,0.188~2.250,0.120~1.440 μg。Yang M等^[17,56]通过HPLC对从灵芝子实体中提取的三萜类成分进行分析,检测到6个新的三萜类成分,分别为灵芝酸C₂,B,AM₁,K,H,D。Gao J J等^[57]分析了10个赤芝样品及8个不同产地人工栽培赤芝子实体中的19种成分,其中有6种灵芝醇,即lucidumol A,lucidumol B,ganoderiol F,ganodermatriol,ganodermanontriol, ganodermanondiol,和13种灵芝酸ganoderic acid A,B,C₁ & H,C₂,Compound C₆,ganoderic acid G,ganolucidic acid A,ganoderic acid θ,η,ε和γ的含量,见表2。对几个不同产地的灵芝酸进行的检测结果表明,赤芝含上述19种灵芝三萜化合物的总量是2.44%~4.44%,鹿角灵芝的总量是5.88%~7.03%,说明鹿角灵芝中19种三萜化合物的含量比赤芝约高1.5倍。赤芝和鹿角灵芝的6种灵芝醇和13种灵芝酸及其对照品的HPLC图见图2,3。

表2 不同产地的灵芝中6种灵芝醇和12种灵芝酸的质量分数^[57]

| 类别 | 赤芝1 | 赤芝2 | 赤芝3 | 赤芝4 | 赤芝5 | 赤芝6 | 鹿角芝1 | 鹿角芝2 | 鹿角芝3 |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 灵芝醇 | 565.7 | 483.9 | 221.8 | 430.0 | 319.9 | 2073.3 | 2742.9 | 758.3 | 865.9 |
| 灵芝酸 | 3 875.5 | 2 030.2 | 2 221.2 | 2 265.6 | 3 452.6 | 1 143.1 | 4 007.9 | 6 276.0 | 5 009.8 |
| 总计 | 4 441.2 | 2 514.1 | 2 443.1 | 2 695.6 | 3 772.5 | 3 216.4 | 6 773.7 | 7 034.2 | 5 875.8 |



a. 6种灵芝醇的对照品HPLC图;b. 赤芝子实体;c. 鹿角灵芝子实体;1. lucidumol A;2. ganodermanontriol;3. ganodermatriol;4. lucidumol B;5. ganoderiol F;6. ganodermanondiol;液相分析条件:TSK gel ODS-80 Ts (Tosoh) 色谱柱(4.6 mm × 150 mm);流动相:1%醋酸水-乙腈,0 min,45:55;40 min,40:60;流速1 mL · min⁻¹;检测波长243 nm。

图2 不同灵芝产地6种灵芝醇的液相图谱^[57]

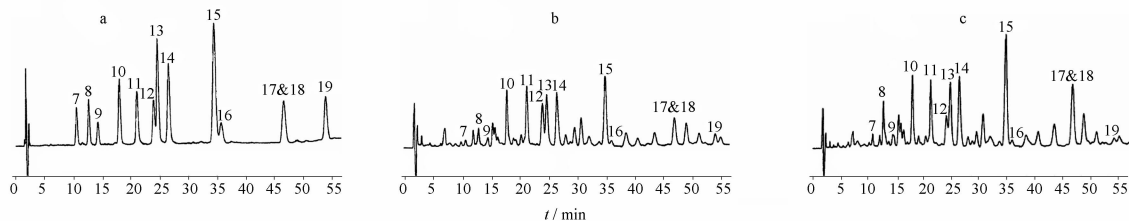
Fig. 2 HPLC spectrums of six ganoderols from *Ganoderma lucidum* in different areas

5 灵芝三萜类化合物的研究展望

近年来,国内外研究者对灵芝三萜类成分的研究越来越多,国内将研究重点放在灵芝总三萜的提取及其含量测定上,而对于灵芝中三萜类成分的分离、药理作用研究则较多

见于国外报道,主要原因是灵芝三萜类化合物的标准对照品很昂贵,其价格是黄金的数百倍,国内许多药理学研究人员只好望此却步。

由于灵芝是一种食药两用的食用菌,也是我国法定的一



a. 13种灵芝酸的对照品 HPLC 图; b. 赤芝子实体; c. 鹿角灵芝子实体; 7. ganoderic acid θ ; 8. ganoderic acid η ; 9. ganoderic acid ε ; 10. ganoderic acid C2; 11. compound C6; 12. ganoderic acid G; 13. ganoderic acid γ ; 14. ganoderic acid B; 15. ganoderic acid A; 16. ganoderic acid α ; 17. ganoderic acid C1; 18. ganoderic acid H; 19. ganolucidic acid A; 液相分析条件: TSK gel ODS-80 Ts (Tosoh) 色谱柱 (4.6 mm \times 150 mm); 流动相: 2% 醋酸水-乙腈, 0 min, 75: 25; 50 min, 70: 30; 70 min, 60: 40; 流速 1 mL \cdot min⁻¹; 检测波长 250 nm。

图3 不同灵芝产地13种灵芝酸的液相图谱^[57]

Fig. 3 HPLC spectrums of 13 acids from *Ganoderma lucidum* in different areas

种中药材。几千年来,灵芝作为一种名贵的中药在我国民间广泛使用。因此,深入研究灵芝的主要活性成分三萜类化合物的提取分离纯化工艺,已成了国内外研究的热点。特别是超临界 CO₂ 提取法,不使用有机溶剂,没有溶残,是一种不污染环境的绿色提取技术,又可实现自动化产业化提取,是目前研究的进展比较快的一种新技术。

对灵芝三萜的纯化方面,过去常采用硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 凝胶色谱反复分离富集纯化,或使用中、高压制备液相色谱法相结合的方法,价格昂贵成本高、对环境污染大、操作复杂步骤多,主要靠人工来实现,因此难以产业化。随着大孔树脂分离技术和高速逆流色谱技术的发展,加快了天然产物中活性成分的分离和纯化工艺技术的产业化。

高速逆流色谱(high speed countercurrent chromatography, HSCCC)是近20年来发展迅速一项高新技术。它是利用溶质在2种互不相溶的溶剂体系中分配系数的差别,从而实现分离的色谱法,无需固体作固定相,不存在固体对样品成分的吸附、沾污、变性和失活等现象,有很高的回收率,可促进灵芝三萜成分的分离纯化及其半自动化生产。

综上所述,灵芝三萜化合物的提取纯化工艺,将朝着溶剂可反复循环使用、对环境污染又小、自动化(或半自动化)的提取高新技术发展,其中,超临界二氧化碳提取、大孔吸附树脂分离、高速逆流色谱纯化等现代分离纯化技术,将是灵芝三萜化合物的提取分离工艺技术的发展趋势,也将在其他中草药活性成分的分离纯化方面具有应用价值。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:174.
[2] Xu J W, Zhao W, Zhong J J. Biotechnological production and application of ganoderic acids[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 87:57.
[3] Li Y Q, Wang S F. Antihpatitis B activities of ganoderic acid from *Ganoderma lucidum*[J]. Biotechnol Lett, 2006, 28:837.
[4] Ko H H, Hung C F, Wang J P, et al. Antiinflammatory triterpe-

noids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae*[J]. Phytochem Anal, 2008, 69(1):234.

[5] Li C, Li Y, Sun H H. New ganoderic acids, bioactive triterpenoid metabolites from the mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. Nat Prod Res, 2006, 20(11):985.
[6] 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.
[7] Liu J, Kuniyoshi Shimizu, Fumiko Konishi, et al. Anti-androgenic activities of the triterpenoids fraction of *Ganoderma lucidum* [J]. Food Chem, 2007, 100:1691.
[8] Pillai T G, Bincy C P, Janardhanan K K. Anti-oxidant activity of triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* [J]. Amala Res Bull, 2004, 24:185.
[9] Huang S M, Yang X L, Wang B W, et al. Anti-tumor activity of ethanol-soluble and acidic components from *Ganoderma lucidum* [J]. Nat Prod Res Dev, 2004, 16:146.
[10] Min B S, Gao J J, Hattori M, et al. Anti-complement activity of terpenoids from the spores of *Ganoderma lucidum* [J]. Planta Med, 2001, 67:811.
[11] Min B S, Gao J J, Nakamura N, et al. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against meth-A and LLC tumor cells[J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48:1026.
[12] Li P Z, Zhang K C. Isolation, purification, and antimicrobial activity of ganoderic acids M1-M3 from the fermented mycelia of *Ganoderma lucidum*[J]. Nat Prod Res Dev, 1999, 11:67.
[13] 罗俊,林志彬. 灵芝三萜类化合物药理作用研究进展[J]. 药理学学报, 2002, 37(7):574.
[14] 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.
[15] 侯敏娜,刘剑. 灵芝三萜的提取分离及总三萜的含量测定[J]. 现代中药研究与实践, 2010,24(5):70.
[16] Iksoo Lee, Jungju Seo, Jinpyo Kim, et al. Lanostane triterpenes from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects on adipocyte differentiation in 3T3-L1 Cells [J]. J Nat Prod, 2010, 73:172.



- [17] Wang X M, Yang M, Guan S H, et al. Quantitative determination of six major triterpenoids in *Ganoderma lucidum* and related species by high performance liquid chromatography [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2006, 41:838.
- [18] Sri Fatmawati, Kuniyoshi Shimizu, Ryuichiro Kondo. Ganoderic acid Df, a new triterpenoid with aldose reductase inhibitory activity from the fruiting body of *Ganoderma lucidum* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81:1033.
- [19] 张志军, 朱越, 罗莹, 等. 灵芝中三萜类化合物提取工艺 [J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(9):81.
- [20] 张亮, 程一伦, 孙春玉, 等. 灵芝主要有效成分超声提取工艺的优化 [J]. *北华大学学报*, 2010, 11(2):140.
- [21] 弓晓峰, 谢明勇, 陈奕. 黑灵芝中三萜及其皂苷类化合物总量的光度测定 [J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(5):825.
- [22] Somayeh Keypour, Hasan Rafati, Hossain Riahi, et al. Qualitative analysis of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* from Iran and China by RP-HPLC and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS) [J]. *Food Chem*, 2010, 119:1704.
- [23] Liu Y L, Liu Y P, Qiu F, et al. Sensitive and selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of five ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* and its related species [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2011, 54:717.
- [24] 黄霄云, 何晋浙, 王静, 等. 微波提取灵芝中三萜类化合物的研究 [J]. *中国食品学报*, 2010, 10(2):89.
- [25] Chen Y, Xie M Y, Gong X F. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum* [J]. *J Food Eng*, 2007, 81:162.
- [26] 韩布兴. 超临界流体与技术 [M]. 北京:中国石化出版社, 2010:8.
- [27] 廖传华, 史勇春. 超临界流体与中药制备 [M]. 北京:中国石化出版社, 2007:1.
- [28] 宋师花, 贾晓斌, 陈彦, 等. 超临界 CO₂ 萃取灵芝子实体中的三萜类成分 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(17):2104.
- [29] 张洁, 段继诚, 梁振, 等. 超临界流体萃取-高效液相色谱离线联用分析灵芝中三萜类化合物 [J]. *分析化学*, 2006, 34(4):447.
- [30] 陈燕, 柳正良, 陈志东, 等. 优选超临界 CO₂ 萃取灵芝孢子粉中总三萜化合物的最佳工艺 [J]. *药学服务与研究*, 2010, 10(1):34.
- [31] 贾晓斌, 宋师花, 陈彦, 等. 超临界 CO₂ 萃取法和醇回流法提取灵芝中三萜类成分的比较 [J]. *中成药*, 2010, 32(5):868.
- [32] Rueychi Hsu, Binhwae Lin, Chiwei Chen. The study of supercritical carbon dioxide extraction for *Ganoderma lucidum* [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2001, 40:4478.
- [33] 廖幼鸣, 姚渭溪, 赵颖涛, 等. 一种从灵芝中制备灵芝三萜酸和灵芝多糖的方法:200410005571 [P]. 2005-01-05
- [34] 钱律余. 全灵芝孢子中有效成分的超临界 CO₂ 萃取方法:中国, 200410017468 [P]. 2005-01-12.
- [35] Chen M, Zhang M, Sun S, et al. A new triterpene from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* [J]. *Acta Pharm Sin*, 2009, 44(7):768.
- [36] 陈若芸, 于德泉. 赤芝孢子粉三萜化学成分研究 [J]. *药学报*, 1991, 26(4):267.
- [37] Cheng C R, Yue Q X, Wu Z Y, et al. Cytotoxic triterpenoids from *Ganoderma lucidum* [J]. *Phytochem Anal*, 2010, 71:1579.
- [38] Liu J, Kenji Kurashiki, Kuniyoshi Shimizu, et al. Structure-activity relationship for inhibition of 5 α -reductase by triterpenoids isolated from *Ganoderma lucidum* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14:8654.
- [39] Toshihiro Akihisa, Masaaki Tagata, Motohiko Ukiya, et al. Oxygenated lanostane-type triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68:559.
- [40] 钱竹, 徐鹏, 章克昌, 等. 大孔树脂分离提取发酵液中灵芝三萜类物质 [J]. *食品与生物技术学报*, 2006, 25(6):111.
- [41] Ma J Y, Ye Q, Hua Y J, et al. New lanostanoids from the mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65:72.
- [42] Yoshiyuki Mizushima, Naoko Takahashi, Linda Hanashima, et al. Lucidenic acid O and lactone, new terpene inhibitors of eukaryotic DNA polymerases from a basidiomycete, *Ganoderma lucidum* [J]. *Bioorg Med Chem*, 1999, 7:2047.
- [43] Tianshung Wu, Lishian Shi, Shengchu Kuo. Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64:1121.
- [44] Gao J J, Byung-Sun Min, Eun-Mi Ahn, et al. New triterpene aldehydes, lucialdehydes A-C, from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(6):837.
- [45] Kenji Iwatsuki, Toshihiro Akihisa, Harukuni Tokuda. Lucidenic acids P and Q, methyl lucidenate P, and other triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66:1582.
- [46] Hueyjen Su, Yihfen Fann, Meiling Chung, et al. New lanostanoids of *Ganoderma tsugae* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63:514.
- [47] Peter Kleinwaelter, Ngo Anh, Trinh Tam Kiet, et al. Colossolactones, new triterpenoid metabolites from a vietnamese mushroom *Ganoderma colossum* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64:236.
- [48] Liu J, Kuniyoshi Shimizu, Fumiko Konishi, et al. Anti-androgenic activities of the triterpenoids fraction of *Ganoderma lucidum* [J]. *Food Chem*, 2007, 100:1691.
- [49] 王江海, 袁建平, 徐世平, 等. 薄层色谱光度法测定灵芝孢子油中的总三萜含量 [J]. *中国食品学报*, 2004, 4(3):76.
- [50] Ching Hua Su, Yi Zhen Yang, Hsiu O Ho, et al. High performance liquid chromatographic analysis for the characterization of triterpenoids from *Ganoderma* [J]. *J Chromatogr Sci*, 2001, 39(3):93.
- [51] 李保明, 刘超, 陈若芸, 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.
- [52] 杨军, 余德顺, 罗俊, 等. 超临界二氧化碳萃取灵芝总三萜的工艺研究 [J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(3):539.
- [53] Naoto Sato, Ma C M, Katsuko Komatsu, et al. Triterpene-farnesyl hydroquinone conjugates from *Ganoderma sinense* [J]. *J Nat*



- Prod, 2009, 72:958.
- [54] 李保明, 刘超, 陈若芸, 等. 赤芝中三萜酸 HPLC 特征图谱的研究[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9):1514.
- [55] 丁平, 梁英娇, 罗进辉, 等. 灵芝中主要六种三萜酸类成分的 HPLC 定量分析[J], 中国药学杂志, 2009, 44(11):822.
- [56] Yang M, Wang X M, Guan S H, et al. Analysis of triterpenoids in *Ganoderma lucidum* using liquid chromatography coupled with electro-spray ionization mass spectrometry [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2007, 18:927.
- [57] Gao J J, Norio Nakamura, Byung-Sun Min, et al. Quantitative determination of bitter principles in specimens of *Ganoderma lucidum* using high performance liquid chromatography and its application to the evaluation of Ganoderma Products[J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(6):688.

Study progress on triterpenoids from *Ganoderma Lucidum*

LI Ye^{1*}, ZHU Zhongmin¹, YAO Weixi¹, CHEN Ruoyun²

(1. Fujian Xianzhilou Biological Science & Technology Co., Ltd. National R&D Center For Edible Fungi Processing, Fujian Engineering Research Center for Medicinal Fungi, Fuzhou 350002, China;

2. State Key Laboratory for Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[Abstract] In this review, recent progress in the extraction and purification, and the chemical composition analysis of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* was summarized. Triterpenoids are an important class of active components in *G. lucidum*. Because of its low content, complex procedures of extraction and purification, the preparation of high purity triterpenoids from *G. lucidum* is currently limited at the laboratory scale. This review discussed the industrial preparation of triterpenoids, aiming to promote the industrial development of *G. lucidum*, and to provide scientific basis for its study, production, and application in health food and medicine.

[Key words] *Ganoderma lucidum*; triterpenoids; extraction; purification; analysis

doi:10.4268/cjmm20120209

[责任编辑 马超一]