

二萜类化合物的提取与纯化工艺研究进展

韦 玮, 金日显, 陈燕军*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 对近 10 年来二萜类化合物的提取纯化工艺进行总结, 并探讨新工艺的发展前景。方法: 查阅并研究相关文献报道。结果: 目前提取方法多采用乙醇回流、渗漉、冷浸等, 新技术如超声辅助提取、超临界 CO₂ 萃取、微波提取、亚临界水提取、β-环糊精辅助提取等也有应用。纯化工艺有溶剂萃取法, 柱色谱技术, 大孔树脂吸附, 高速逆流色谱等。结论: 随着提取纯化的新技术不断应用, 二萜类化合物提取纯化工艺向着高效、节能、环保方向发展。

[关键词] 二萜; 提取; 纯化

[中图分类号] R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2007)12-0066-05

Progress in the Study on Extraction and Purification of Diterpenes Compounds

WEI Wei, JIN Ri-xian, CHEN Yan-jun*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To summarize the technologies on the extraction and purification of diterpenes compounds in recent ten years, the prospects of new technologies are discussed. **Methods:** Refer to the correlation literature about extraction and purification of diterpenes compounds. **Results:** At present, the commonly technology includes circumfluence, maceration and percolation et. New technologies such as ultrasonic extraction technology, supercritical fluid extraction (CO₂), microwave supercritical fluid extraction, sub-critical water extraction, extraction process with the aid of β-cyclodextrin (EPAC) are also used. The purification technologies have organic solvent extraction, adsorption chromatography, macroporous resin adsorption, high-speed counter current chromatography (HSCCC) et. **Conclusion:** The extraction and purification of diterpenes compounds will become higher efficient, saving energy and environmental protection with the new technologies are used in practice.

[Key words] diterpenes; extraction; purification

二萜类化合物在自然界分布很广, 不少二萜含氧衍生物具有很好的生物活性, 如穿心莲内酯、雷公藤内酯、银杏内酯等, 有些已是临床常用的药物^[1]。特别是在抗肿瘤和抗免疫性疾病方面具有较明显的作用, 具有良好的开发前景。本文根据二萜类化合物结构, 对其近 10 年来的提取纯化工艺研究进行总结, 并探讨新工艺的发展前景。

1 双环二萜

1.1 穿心莲内酯 目前临床上以穿心莲为君药的中成药有 10 余种, 包括片剂、注射液、滴鼻液等, 其主要有效成分为穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯及脱氧穿心莲内酯等内酯成分^[2], 由于其内酯类结构及在碱性条件下开环、酸性环境下闭环等特性, 提取多采用碱提酸沉法、乙醇浸渍或渗漉, 纯化则可以根据本类化合物极性差异而采用溶剂萃取结晶法。

郭彬^[3]等采用水提、水提醇沉、醇提、1, 0.5, 0.1, 0.04, 0.01% 碳酸钠碱水(碱提酸沉法)等 8 种方法分别提取穿心莲浸膏, 结果表明 0.01% 碱水提取的内酯含量(21.51%) 最高, 所用成本最低, 含水量(0.75%) 最低, 平均回收率为 96.88%。张玲^[4]等研究则发现以醇提工艺提取内酯成分含量较高, 其中, 醇浸渍工艺 > 醇渗漉工艺 > 醇温浸工艺 > 醇

[收稿日期] 2007-03-26

[通讯作者] * 陈燕军, Tel: (010) 64014411-2952; E-mail: ivycyj@163.com

回流工艺。卓菊^[5]等用正交实验法优选穿心莲的最佳提取工艺为: 95% 乙醇, 浸渍 24 h, 收集 9 倍量的渗漉液。聂凌云^[6]等考察了不同浓度乙醇渗漉提取穿心莲内酯类成分的动态变化及温度对穿心莲内酯类成分的影响, 结果以 70% 乙醇最佳, 浓缩温度应低于 60 °C, 提取物于 85 °C 加热 48 h 穿心莲内酯含量下降明显, 脱水穿心莲内酯含量略有增加, 两者之和则呈下降趋势。张春滨^[2]等改进了穿心莲内酯提取纯化工艺, 流程为穿心莲粗粉用 98% 乙醇热浸, 回收乙醇得浸膏, 活性炭脱色除杂, 水溶过滤后氯仿溶解, 静置过滤, 水和氯仿层用丙酮洗涤后用丙酮结晶, 棒晶为新穿心莲内酯, 母液浓缩后得棒晶(穿心莲内酯), 氯仿层用氯仿-乙醇(9:1)洗脱, 洗脱液蒸干丙酮结晶, 得片晶(去氧穿心莲内酯), 穿心莲内酯样品含量比传统工艺提高 3%。因此改进后的新工艺有效地提高了穿琥宁原料(穿心莲内酯)的含量, 除去了致敏源, 保证了穿琥宁制剂临床用药的安全有效。

1.2 银杏萜内酯 银杏萜内酯主要包括银杏内酯 A、B、C 和白果内酯。银杏内酯 B 是一种很有应用前景的特异性血小板激活因子(PAF)受体拮抗剂, 其专一性高, 而银杏内酯 A 也是一种重要的昆虫拒食素, 白果内酯对老年痴呆症和神经系统疾病具有一定疗效。目前, 银杏萜内酯对心脑血管及外周血管疾病的良好疗效已使它成为药品及保健食品的原料。但目前银杏叶仍是提取银杏萜内酯化合物的主要工业生产来源, 银杏萜内酯的提取分离方法报道较多^[7]。提取方法有乙醇回流或浸提、CO₂ 超临界流体萃取; 纯化的技术有吸附色谱、分配色谱, 新兴技术高速逆流色谱也有报道。

常规方法上, 董新荣^[8]等以银杏标准提取物为原料乙酸乙酯部位活性炭脱色后上硅胶层析柱分离, 得到三种内酯(GA、GB、GC)的总含量高达 90% 以上。李新岗^[9]等探讨了银杏内酯的 Al₂O₃ 柱色谱制备的方法, 纯化回收率为 70%, 平均得率为 4.2%, 总内酯的含量平均为 95.31%。郁青^[10]等将银杏叶以 40%~50% 乙醇水溶液 80 °C 提取, 用醋酸乙酯萃取, 将萃取物(B)变成水溶液上 DM-130 柱精制, 得精制品 C; 将精制品 C 变成水溶液上聚酰胺柱精制, 得精制品 D; 将精制品 D 再变成水溶液, 加适量的盐, 用正己烷与乙酸乙酯混合溶剂萃取 3 次, 合并萃取液, 浓缩挥去有机溶剂干燥得产品 E。经过对每步精制工艺的精心设计和五步精制工艺的组合, 可使银杏叶中萜内酯含量的 0.40% 富集到 76.1%, 萜内酯的总回收率高达 68%。

采用新技术方面, 余佳红^[11]等以银杏叶粗提物为原料, 利用高速逆流色谱法(HSCCC), 以氯仿-甲醇-水(4:3:2)为溶剂系统, 分离制备得到白果内酯单体。本方法简便、快速, 为中草药有效成分的制备提供了一条新途径。缪菊连^[12]等采用醇回流提取银杏叶中的总黄酮, 再采用 SFE-CO₂ 法萃取总内酯, 提取率为 0.5952%, 比醇回流高 0.2659%, 说明 SFE-CO₂ 法提取银杏叶总内酯效果较好。张玉祥^[13]等通过正交试验研究确定了 CO₂ 超临界流体最佳的萃取工艺, 总黄酮含

量可达 27%, 总内酯含量高达 7.6%, 含量高于欧洲(EGb761)的质量标准。再次证明 SFE-CO₂ 法能有效萃取银杏叶中的总黄酮和总内酯。纯化技术方面, 何判^[17]等采用 DA201 型大孔吸附树脂分离银杏叶提取物中银杏内酯 A、B、C 和白果内酯, 结晶纯化即可连续制得纯度达 95% 以上的白果内酯, 银杏内酯 A、B、C 单体。本工艺操作中只采用无毒试剂水和乙醇, 对产品药用提供了安全保障。仝燕^[14]等应用大孔树脂柱粗分离除掉大部分的水溶性杂质, 使再精制的处理量大大减小, 仅用很少量的醋酸乙酯萃取, 即可得到含量高于 50% 的总内酯提取物, 同时可得到总黄酮部分。此工艺总内酯转移率高, 经实验室放大及工厂中试生产表明工艺放大适应性较好, 工艺简单, 成本明显降低, 总内酯提取物得率、四种内酯转移率及含量达到较理想的水平。

2 三环二萜

本类化合物以雷公藤、丹参、迷迭香等中草药的松香烷型二萜活性成分为代表。其中雷公藤内酯醇为(triptolide, Tri)为雷公藤发挥免疫抑制作用的主要成分之一。在器官移植抗排斥、抗肿瘤、抗生育等方面显示了巨大的应用前景^[15]。丹参中属于本类化合物主要为丹参酮 II A、隐丹参酮、丹参酮 I。它们均具有天然抗氧化、抗动脉粥样硬化、降低心肌耗氧量及抗菌消炎等作用^[16]。迷迭香中含松香烷型二萜酚类成分主要为鼠尾草酸、迷迭香酚、7-乙氧基迷迭香酚、鼠尾草酚、7-甲氧基迷迭香酚等, 具明显的抗氧化、防腐、抗菌、抗肿瘤、抗艾滋病病毒及微生物等活性, 其中鼠尾草酸的活性最强^[17]。本类化合物可采用渗漉、回流等传统方法作提取, 也可利用新技术如超声、微波提取、超临界流体萃取等达到高效提取的目的, 但多尚未在生产中应用。纯化的工艺有离子交换色谱法、硅胶柱层析法, 大孔树脂吸附法, 均有较好的效果。

2.1 提取方法 在传统提取工艺方面, 蔡杰等^[18]用正交试验法优化总丹参酮渗漉提取工艺, 最佳提取工艺条件为: 8 倍量 75% 的乙醇浸泡 12 h, 渗漉速度 1.0 mL/min, 丹参酮收率为 0.287 2%。在应用回流提取方法上, 杨巧巧^[19]等采用正交试验法优化得到的方法为: 3 倍量乙醇, 回流温度 65 °C, 回流时间 1.5 h。丹参酮 II A 浸出量为 0.47%。徐燕^[20]等确定了最佳的隐丹参酮提取工艺: 10 倍量 95% 工业乙醇, 回流提取 2 次, 每次 2 h, 干膏中隐丹参酮的含量为 0.43%。

新技术应用方面, 以应用 CO₂ 超临界流体萃取较优。王诗宏^[21]等采用超临界 CO₂ 流体技术对雷公藤的总萜内酯进行萃取所得萃取物中有效成分雷公藤甲素的含量为 0.04%, 比雷公藤浸膏中的含量(0.02%)高, 甲素的得率为 0.001 68%, 比水提醇沉法和乙醇渗漉法的得率(0.000 82%~0.000 90%)也要高。而采用 CO₂ 超临界流体萃取丹参中的有效成分丹参酮类物质的工艺是以 950 mL/L 乙醇为夹带剂, 压力 20 MPa, 温度为 45 °C 的条件萃取, 丹参酮 II A 和隐丹参酮的萃取率分别是 0.78%、0.58%, 与传统回流提取法

及超声提取法比较,超临界萃取法对丹参酮类物质的萃取率明显高于前两种方法^[16]。潘利明^[17]等利用超临界二氧化碳流体萃取(SFE-CO₂)技术从迷迭香中萃取二萜酚类成分,与传统提取方法作对比,结果所得萃取物杂质较少,二萜酚成分含量高于传统方法,且溶剂用量仅为常规乙醇提取的 1/7 左右。贲永光^[22]等采用超声波技术对丹参酮提取进行强化,与常规提取方法相比较,具有溶剂用量少,提取效率高,提取时间短,温度低的优点。焦士龙^[23]等报道了丹参微波提取工艺,其中丹参酮 II A 微波提取量平均值为 2.195 mg·g⁻¹,是传统法 1.214 倍,提取时间是传统法的 1/5.2。张振海^[24]等研究环糊精辅助提取丹参的工艺,经过优化的工艺为加入丹参量 20% 的 β-环糊精用水提方法提取,发现 β-环糊精辅助提取工艺的提取物中丹参酮 II A 指标明显优于水提提取物,丹参酮 II A 含量接近 0.4%。徐志宏^[25]等在亚临界水提取丹参药材中的丹参酮 II A 的研究中,建立了丹参酮 II A 亚临界水提取的最佳条件:样品颗粒度为(0.18~0.15)mm,5 MPa,180 °C 保持 10 min。与有机溶剂提取法比较,当两者具有相同的提取效率时,亚临界水提取法的提取时间及提取溶剂的消耗大大减少,并避免了因使用有机溶剂而造成的污染。该技术有望成为从中药材中提取热稳定的脂溶性成分的有效方法。

2.2 纯化工艺 在纯化工艺的探索方面,罗兴旺^[26]等以 95% 的乙醇回流提取雷公藤茎叶的雷公藤内酯醇,得浸膏后采用硅胶柱层析法分离,先用氯仿洗脱粗分离后,用同样的层析法,乙酸乙酯-石油醚(1:15)洗脱进一步分离,最后经二氯甲烷-石油醚重结晶,得率为 0.000 5%。王曙东^[15]等报道了 D101 净品型大孔吸附树脂分离精制雷公藤叶中 Tri 可行性,其吸附分离参数为:药液浓度(0.5~1)g·min⁻¹,pH 值为原液值(即 3.0~5.0 左右),流速为(1~2)mL·min⁻¹ 时为宜,以 95% 乙醇为洗脱剂解吸。每 10 g 树脂最多可吸附相当于 100 g 生药量中的 Tri,最少需 600 mL 95% 乙醇可将 Tri 洗脱完全,效果较好。董蕊^[27]等采用新的工艺分离纯化丹参酮,流程为:乙醇浸提液浓缩,上 SephadexLH-20 柱,用 100% 甲醇洗脱,根据颜色分为两段:桔红色段和棕红色段,再上 SephadexLH-20,分别用 70% 和 50% 甲醇洗脱,分别得丹参酮 II A、丹参酮 I。此方法的操作简便、快捷,所分离的化合物纯度较高、得率较大、节省试剂。

3 四环二萜

3.1 贝壳杉烷类 溪黄草和半边旗中均具有贝壳杉烷型二萜类化合物,并有强烈抗癌作用,传统的提取方法主要是乙醇回流提取方法,效率低、共存组份多、难以分离,且受热时间长、活性成分容易被破坏^[28,29],采用超临界流体萃取可以解决上述问题。纯化则可采用普通硅胶柱层析、AgNO₃ 硅胶柱法和大孔树脂吸附法。

3.1.1 提取工艺 邓亦峰^[28]等以超临界 CO₂ 与改性剂甲醇组成的复合流体萃取半边旗中二萜类化合物,提取率为 0.117%,达到索氏提取法 8 h 提取率的 97.2%。充分展示了

超临界 CO₂ 萃取法的高效率。经中试实验考察,改为采用乙醇作改性剂,萃取流量为 80 L/h,二级解析釜压力分别为 8 和 5.5 MPa,动态萃取 3 h^[31]。在溪黄草提取方法的研究报道方面,邓韵^[29]等研究结果表明溪黄草二萜成分用乙醇提取率最高,达 2.07%。说明极性较大的有机溶剂有利于溪黄草二萜成分的浸取和溶解,根据相似相溶原理,这与溪黄草二萜成分属于极性物质是相符合的。而段志芳^[32]等通过正交试验确定了超声辅助提取的最佳工艺:60% 乙醇,温度 80 °C,料液比 1:35 条件下提取 30 min,连续提取 2 次,总二萜的提取率可达 99.86%。与微波萃取冬凌草甲素的工艺比较,超声提取冬凌草中的有效成分具有提取快速、完全、提取率高、操作简单、节省时间、溶剂和能源无需加热、被提取的有效成分不易受破坏等优点。微波萃取则具有提取时间更短的优点,不过提出的有效成分量不如超声法高,可能是由于微波辐射所引起的短时高温会对有效成分有一定程度的影响,但该方法仍不失为一种快速高效的提取方法^[33]。

3.1.2 纯化工艺 兰柳波^[30]等报道了一种有效纯化半边旗抗肿瘤有效成分 5F 的方法:粗提物用常规硅胶柱层析法分离,得 5F 和 4F 的混合物,再把混合物上 AgNO₃ 硅胶柱,避光条件下进行层析,得到 5F 和 4F 化合物的相对含量分别为 99.27% (含 0.73% 4F)、99.50% (含 0.50% 5F)。尽管利用 AgNO₃ 结合硅胶可以分离出 5F 和 4F 的纯品,但是有时候所得的产品中易混有 AgNO₃ 杂质,这个问题虽然可以用 NaCl 小柱除去,但过程略嫌繁琐。邓亦峰^[34]等将半边旗超临界二氧化碳提取物浸膏制成 20% (φ) 乙醇水混悬液,以 D101 大孔吸附树脂柱分离,得半边旗总二萜提取物。吕应年^[35]等则以常压硅胶柱层析分离纯化,流动相为石油醚:丙酮:醋酸—7:3:0.05 (体积比),纯化分离得到两个贝壳杉烷型二萜单分子化合物,纯度分别从 62% 和 17% 提高到 96% 和 94%。整个分离操作工艺简单、原料安全便宜,避免了使用有毒溶剂对产品的潜在危险。

3.2 大戟烷类 文献[36]报道了从续随子(Euphorbia lathyris)种子中快速分离巨大戟二萜醇(ingenol)的方法,ingenol 中的一种酯类具有抗癌及抗 HIV 活性。分离方法:将续随子丙酮浸提,得到 825 g 油状物,将此油状物分为环己烷部分和乙腈部分。乙腈部分用石油醚洗脱,除去石油醚后成为半结晶状物质。将此物溶解在甲醇中,加入 KCN,几小时后开始产生沉淀,并在此过程中伴随 TLC 检识,以己烷-乙酸乙酯(3:7)为展开剂,在 R_f 值 0.32 处为巨大戟二萜醇(1a)。7 d 后将其沉淀过滤,得到 L₁(2),干燥后乙酸乙酯溶解进行硅胶柱层析分离,以己烷-乙酸乙酯(5:5)为洗脱剂洗去未反应的大环酯成分,再将洗脱剂改为己烷-乙酸乙酯(2:8),则得到巨大戟二萜醇(1a, 0.027%)。用己烷-乙酸乙酯(5:5)为洗脱剂,洗脱物进行反复硅胶柱层析分离,在己烷-乙酸乙酯(7:3)部分得到大环续随子部分,即 L₃(4a)、L₂(3)、L₁(2) 和 L₈(4b)。采用 TLC、旋光度 JR、MS 及 NMR 的方法鉴定为巨大戟二萜

醇。本法可限制皮肤刺激性油产生,而且能分离出大环二萜类成分。

4 结语

二萜类化合物是中药中具有良好生理活性的重要组分。快速高效,节省能源,简便易行的提取纯化工艺对中药现代化具有重要意义。目前较为常用的提取方法和纯化技术比较成熟,但存在溶剂,能源消耗大且效率不高的问题,合理使用一些新技术可以有效改善提取和纯化效果,使二萜类化合物制备向高效节能环保的方向发展。实际生产时应根据本类化合物的特有理化性质,选择合适的提取纯化技术。为了扬长避短,还可以多技术联合使用,探寻最佳的工艺条件。近年来兴起的动态逆流连续提取技术、酶辅助提取、亚临界水提取、 β -环糊精辅助水提取对于脂溶性二萜类化合物具有较好的适应性,以及现在兴起的高速逆流色谱、分子蒸馏、膜分离等新技术,随着人们对其研究的深入及对其机理过程有较好的把握。这些技术在二萜类化合物提取纯化工艺中有广阔的应用前景。

[参考文献]

[1] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003. 1.

[2] 张春滨,王昆,顾文涛. 穿心莲内酯工艺改进探讨[J]. 中医药信息, 2002, 19(3): 50-51.

[3] 郭彬,娄勇,蒋群,等. 穿心莲浸膏的提取工艺研究[J]. 安徽医药, 2002, 6(3): 7-8.

[4] 张玲,尚立霞,单卫华,等. 穿心莲的提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(8): 458-460.

[5] 卓菊,汪小根. 正交设计研究穿心莲中脱水穿心莲内酯提取工艺[J]. 中南药学, 2005, 3(3): 165-167.

[6] 聂凌云,罗兴平. 穿心莲提取工艺的研究及热稳定性考察[J]. 解放军药学学报, 2006, 21(1): 32-34.

[7] 何剡,何照范,张勇民. DA201型大孔吸附树脂分离银杏叶提取物中银杏内酯A、B、C和白果内酯的研究[J]. 中草药, 2004, 35(12): 1359-1360.

[8] 董新荣,吴国生. 银杏内酯的提取纯化与分离[J]. 湖北化工, 2001, (4): 27-28.

[9] 李新岗,黄蕴慧,顾银娜,等. 银杏内酯的柱色谱制备[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(1): 4-5.

[10] 郁青,沈兆邦,袁跃平,等. 高含量银杏内酯富集方法研究[J]. 林产化学与工业, 2000, 20(2): 1-4.

[11] 余佳红,柳正良,蔡定国,等. 高速逆流色谱分离制备白果内酯[J]. 中国新药杂志, 2000, 9(6): 392-394.

[12] 缪菊连,梁晓原. 回流提取法和SFE-CO₂法结合提取银杏叶中的黄酮和内酯[J]. 云南中医中药杂志, 2005, 26(2): 53-54.

[13] 张玉祥,邱蔚芬. CO₂超临界萃取银杏叶有效成分的工艺研究[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(4): 255-256.

[14] 仝燕,马振山,李先端,等. 银杏总内酯提取物制备工艺的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(6): 7-10.

[15] 王曙东,陶建生. D101树脂对雷公藤内酯醇的吸附性能研究[J]. 中成药, 2005, 27(2): 211-213.

[16] 李霞,唐玉海,赵新锋. CO₂超临界流体萃取丹参中的有效成分[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2004, 25(6): 614-617.

[17] 潘利明,梁晓原. 超临界二氧化碳萃取迷迭香中二萜酚类成分的工艺研究[J]. 云南中医中药杂志, 2006, 27(1): 48-49.

[18] 蔡杰,苏美霞,吴日明,等. 正交试验法优化总丹参酮提取工艺的实验研究[J]. 现代医药卫生, 2005, 21(12): 1493-1494.

[19] 杨巧巧,高君柱. 丹参提取工艺条件的优选[J]. 中成药, 2004, 26(1): 84-85.

[20] 徐燕,杨军仁,刘硕. 丹参中隐丹参酮提取工艺的研究[J]. 西北药学杂志, 2006, 21(3): 111-112.

[21] 王诗宏,杨祥良,韩定猷,等. 超临界二氧化碳萃取雷公藤中有效成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(11): 641-642.

[22] 贲永光,丘泰球,李金华. 超声强化提取丹参有效成分的研究[J]. 陕西科技大学学报, 2006, 24(4): 39-44.

[23] 焦士龙,张泽英,褚治德,等. 微波提取丹参工艺研究[J]. 中草药, 2005, 36(11): 1640-1642.

[24] 张振海,刘力,徐德生. 环糊精辅助提取丹参工艺的研究[J]. 中成药, 2005, 27(3): 264-266.

[25] 徐志宏,钱广生,李章万,等. 丹参中脂溶性成分的亚临界水提取方法研究[J]. 分析化学, 2003, 31(11): 1301-1311.

[26] 罗兴旺,夏志林. 从雷公藤茎叶中提取雷公藤内酯醇工艺研究[J]. 传染病药学, 2003, 13(3): 20-21.

[27] 董蕊,郑毅男. 丹参中丹参酮成分的分离与鉴定[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版), 2004, (2): 100-101, 104.

[28] 邓亦峰,梁念慈. 半边旗中二萜类化合物的超临界CO₂萃取及HPLC-MS分析[J]. 中草药, 2004, 35(2): 145-148.

[29] 邓韵,蔡妙颜,田野. 溪黄草不同溶剂提取物中总二萜含量的测定[J]. 现代食品科技, 2005, 21(2): 153-155.

[30] 兰柳波,邓亦峰,梁念慈. 一种分离与纯化半边旗有效成分5F的新方法[J]. 广东医学院学报, 2003, 21(2): 100-101.

[31] 邓亦峰,梁念慈. 半边旗二萜类活性成分的提取分离研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(10): 742-745.

[32] 段志芳,陈庆华. 超声波法提取溪黄草中总二萜的最佳工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2436-

- 2438.
- [33] 袁珂, 俞莉. 超声提取与微波萃取冬凌草甲素的工艺比较[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(9): 778-779.
- [34] 邓亦峰, 兰柳波, 梁念慈. 液质联用对半边旗二萜类活性成分分离富集方法的研究[J]. 析测试学报, 2004, 23(3): 97-99.
- [35] 吕应年, 邓亦峰, 李彩虹, 等. 常压硅胶柱层析分离制备高纯贝壳杉烷型二萜[J]. 化学与生物工程, 2006, 23(9): 60-62.
- [36] 杜海燕摘译. 从续随子种子中快速分离巨大戟二萜醇的方法研究(英)[J]. 国外医学中医中药分册, 2000, 22(4): 243.
-