

Dulcitol in traditional Chinese compound prescription "Tongbilin" was determined by HPLC. This method is based on the fact that polyols like dulcitol and glucose diethyl mercaptol (internal standard) can react with phenylisocyanate to yield UV-absorbing derivatives which can be detected at 240 nm by HPLC. A TSK-gel ODS-80TM column and mobile phase acetonitrile-ethanol-H₂O (5 : 2 : 3) were employed.

灵芝破壁孢子与不破壁孢子的显微镜 观察与生化测定比较研究[△]

北京理工大学材料科学研究中心(100081) 杨新林* 朱鹤孙 赵东旭
中国无锡三联高科技开发公司 徐建兰 匡群

摘要 首次对灵芝破壁孢子与不破壁孢子进行了初步的比较研究。显微镜下观察,破壁孢子粉与不破壁孢子粉的形态明显不同,采取水提、酸提、水煮三种不同的提取方式,破壁孢子粉提取液中还原糖与多肽含量都明显高于不破壁孢子粉,结果提示经过破壁处理后,灵芝孢子中的化学成分更容易被提取出来。

关键词 灵芝孢子 破壁 还原糖 多肽

近年来,随着灵芝人工栽培技术的发展,规模收集其生殖细胞——灵芝孢子的难题得到解决,逐步开展了对灵芝孢子的研究。有报道灵芝孢子具有降血糖作用^[1],能够调节机体免疫功能^[2],对磷酸肌酸激酶(CPK)含量在免疫性肌炎大鼠肌肉中的下降及血清中的上升亦有拮抗作用^[3]。临床试用治疗萎缩性肌强直等疑难疾病有较满意效果^[4]。灵芝孢子的化学成分也有报道^[5~7]。但以往研究采用原料均为不破壁孢子粉,本文首次对破壁孢子与不破壁孢子进行初步的比较研究。

1 材料与方 法

1.1 灵芝孢子的显微镜观察:灵芝孢子用适量蒸馏水配成悬浮液,涂片后直接在 Ax-

iovert 405M 型荧光倒置显微镜(德国 OP-TON 精密仪器有限公司)上观察,进行显微摄影。

1.2 灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉提取液的制备

1.2.1 酸提和水提:称取破壁与不破壁灵芝孢子粉(由中国无锡三联高科技公司生产并提供)各 2 g,分别置于一 20 mL 试管中,加入 20 mL 2% 盐酸溶液(酸提)或蒸馏水(水提),在沸水浴中加热 2 h,冷却后离心 2 次,每次 1500 mL、10 min,收集得上清液约 5 mL,分装冻干-20℃ 保存。

1.2.2 水煮:称取破壁与不破壁灵芝孢子粉各 2g,分别置于一 500 mL 平底烧杯中,加入

* Address: Yang Xinlin, Research Center of Materials Science, Beijing University of Technology, Beijing
杨新林,男,30岁,博士,副研究员,1992-07毕业于北京师范大学生物系,获理学博士学位。1992-09~1994-09在中国科学院动物研究所从事博士后研究:人早期滋养层组织和绒毛膜上皮癌细胞系中的激活素和抑制素的研究。1994-09到北京理工大学材料科学研究中心工作,受聘为生物技术与生物材料研究室副研究员,现担任该室领导工作,研究的主要方向:(1)灵芝孢子抗癌成分的分离鉴定与作用机理研究,(2)C₆₀的生物学效应的研究,(3)复合生物驻极体材料的制备与应用研究。正主持国家重点科技项目(攻关)计划1项,参加的自然科学基金项目2项,自然科学基金重大项目1项,负责校优秀中青年教师基金1项,共发表各类文章30篇。

[△] 国家科委主任基金资助项目

约 100 mL 蒸馏水煮 30 min, 冷却后离心, 收集得上清液 I。沉淀再加约 100 mL 蒸馏水, 重复上述步聚 2 次, 得上清液 II 和 III, 分装冻干-20℃保存。

1.3 样品还原糖含量的测定(Somogyi 铜试剂比色法): 精密配制梯度的葡萄糖标准溶液(0~300 μg/mL), 取标准溶液和样品溶液(必要时进行稀释)各 0.5 mL, 用 Somogyi 铜试剂比色法在 580 nm 处测 OD 值, 重复 3 次取平均值, 绘制标准曲线并求得样品的还原糖含量。

1.4 样品多肽含量的测定(Folin 酚法): 精密配制梯度的牛血清白蛋白标准溶液(0~1000 μg/mL), 取标准溶液和样品溶液(必要时进行稀释)各 0.1 mL, 用 Folin 酚法在 580 nm 处测 OD 值, 重复 3 次取平均值, 绘制标准曲线并求得样品的多肽含量。

2 结果

2.1 显微镜观察: 图 1 显示, 不破壁孢子完整、丰满, 双壁结构清晰, 个体形态一致(图 1A); 破壁孢子则双壁结构破坏, 根据程度不同大致可分为轻度破壁(壁穿孔)、中度破壁(截头)和重度破壁三种不同的形态(图 1B)。

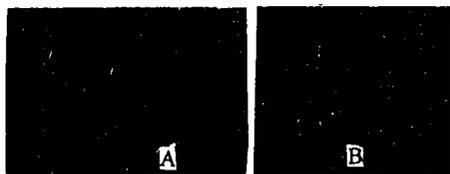


图 1 不破壁孢子粉(A)与破壁孢子粉(B)的显微照片经粗略计算, 孢子的破壁率约为 60~80%。

2.2 还原糖含量测定: 见表 1。连续 3 次水煮灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉各提取液中还原糖含量比较见表 2。

2.3 多肽含量测定: 见表 3, 连续 3 次水煮灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉, 各次提取液中多肽含量的比较见表 4。

3 讨论

3.1 显微镜观察表明, 破壁孢子粉显示出不同的形态, 与不破壁孢子粉形成明显对照。还

原性糖和多肽的测定实验结果表明, 无论采用酸提、水提还是水煮的提取方式, 破壁孢子粉提取液中还原性糖和多肽含量均明显高于等量的不破壁孢子粉, 且破壁孢子粉中还原糖和多肽显然比不破壁孢子粉更易提取。

表 1 灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉提取液中还原糖含量的比较

提取方式	破壁孢子粉 (B)%	不破壁孢子粉 (N)%	(B-N)/N ×100%
水提	0.07	0.04	56
酸提	0.08	0.05	65
水煮	0.37	0.20	85

表 2 连续 3 次水煮灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉, 各次提取液中还原糖含量的比较(%)

	第 1 次	第 2 次	第 3 次	总计
破壁孢子粉	71.6	23.9	4.5	100
不破壁孢子粉	64.9	18.5	16.6	100

表 3 灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉提取液中多肽含量的比较

提取方式	破壁孢子粉 (B)%	不破壁孢子粉 (N)%	(B-N)/N ×100%
水提	0.67	0.57	18
酸提	2.08	1.53	36
水煮	2.35	1.76	34

表 4 连续 3 次水煮灵芝破壁孢子粉与不破壁孢子粉各次提取液中多肽含量的比较(%)

	第 1 次	第 2 次	第 3 次	总计
破壁孢子粉	56.8	38.8	4.4	100
不破壁孢子粉	54.5	35.5	10.0	100

3.2 灵芝孢子外包有双层厚壁, 其破壁问题一直没有解决。我们经过多年探索, 初步解决了这一难题。本文结果表明, 经过破壁处理后, 灵芝孢子中的化学成分更容易被提取出来。破壁孢子粉的醇提取液比不破壁孢子粉具有更强的体外抗肿瘤活性。灵芝孢子具有重要的潜在药用价值^[1~4], 我们的研究说明, 破壁处理技术将为开发利用灵芝孢子提供有

力的手段。

参 考 文 献

1 章灵华,等. 中草药,1993,24(5):246
 2 章灵华,等. 中国免疫学杂志,1994,10(3):169
 3 刘耕陶. 中国药理通讯,1993,9(3):4

4 侯翠英,等. 植物学报,1988,30(1):66
 5 富慧谔,等. 中医杂志,1981,26(2):22
 6 李虹奇,等. 中草药,1993,24(10):516
 7 陈若芸,等. 药理学学报,1991,26:430

(1997-03-28 收稿)

Studies on the Differences Between Sporoderm-Broken and Nonbroken Spores of *Lingzhi (Ganoderma lucidum)* by Microscopic Examination and Biochemical Estimation

Yang Xinlin, Xu Jianlan, Zhu Hesun, et al

Sporoderm-broken (SB) and sporoderm-nonbroken (SN) spores of *Ganoderma lucidum* were compared for the first time. The morphology of SB spore was quite different from that of SN spore under microscopy. The yield of reducing sugars and polypeptides from SB spore was much higher than that from SN spore extracted by three different methods. The results suggested that the components of *G. lucidum* spore could be extracted more effectively after sporoderm-broken treatment of spore.

薄层扫描法测定血脂平胶囊中洛伐他汀的含量

沈阳军区总医院药剂科(11005) 宋洪涛* 郭涛 宓鹤鸣** 赵文军*** 潘惠鹏****

摘 要 采用双波长薄层扫描法对血脂平胶囊中的主要有效成分洛伐他汀进行了含量测定。结果洛伐他汀在检测范围内线性关系良好,相关系数为 0.9997,加样回收率为 98.1%,RSD 为 2.25% (n=5)。本法可用于血脂平胶囊中洛伐他汀的含量测定。

关键词 血脂平胶囊 洛伐他汀 薄层扫描法 含量测定

血脂平胶囊的主要成分为自制红曲。其中含有 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA)、还原酶抑制剂洛伐他汀(lovastatin)及其它相关成分。红曲始载于《饮膳正要》,《本草纲目》也有详细记述,《中国药典》(1995 年版)一部收于附录中,具有活血化瘀、健脾消食之功效。我们利用现代生物技术制备的血脂平胶囊有明显降低血脂作用。为控制血脂平的质量,我们利用双波长薄层扫描法对其中主要有效成分洛伐他汀进行了含量测

定。

1 仪器与试剂

CS-930 双波长薄层扫描仪(日本岛津);PBQ-1 型薄层板自动涂布器(重庆南岸新力实验电器厂);层析用硅胶 HF₂₅₄(青岛海洋化工厂);CMC-Na(上海化学试剂采购供应站分装厂);化学试剂均为分析纯;洛伐他汀(美国默莎东大药厂);血脂平胶囊(本院自制)。

2 方法与结果

2.1 薄层层析及扫描条件:0.5%CMC-Na

* Address: Song Hongtao, Shenyang General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang

宋洪涛,男,主管药师,药学硕士。1989 年毕业于第二军医大学,现于沈阳药科大学攻读药学博士学位。致力于中药复方缓释制剂的研究,已发表论文 10 余篇,1993 年出版了《流动注射分析的理论及医疗实践》(第三作者),参加研究的“痒痒宁口服液的研究”获 1992 年度军队科技进步四等奖,“回春至宝口服液的研究”(第三作者)获 1996 年美国世界传统医学突出贡献金奖,“心舒口服液的研究”(第四作者)获 1996 中国张家界国际中西医药学会二等奖。

** - 上海第二军医大学药学院 *** - 沈阳军区二〇二医院 **** - 天津空军医院