

赤芝子实体总核苷的含量测定及薄层色谱鉴别

黄红兵 江英桥

(广州市药品检验所, 广州 510160)

The quantitative determination and TLC identification of total nucleosides in sporophore of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst HUANG Hong-bing, JIANG Ying-qiao (Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160), *J. Plant Resour. & Environ.* 2000, 9(3): 61~62

Abstract: Total nucleosides in sporophore of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst produced in different locality was determined by the UV-spectrophotometry. The contents of total nucleosides in sporophore of *G. lucidum* from Guangxi of China and Viet Nam were 0.33% and 0.34%, the higher contents from Taiwan, Jiangsu and Guangdong were 0.40%~0.46% and lower contents from Yunnan were 0.16%~0.21%. The research proposed a criterion on the quality of *G. lucidum* and a brief discussion about its utilization and development. The TLC identification of uracil, adenine, adenosine and uridine in sporophore of *G. lucidum* was carried out. The methodological study indicated that the method was simple, reliable and specific.

关键词: 赤芝; 总核苷; 紫外分光光度法; TLC

Key words: *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst; total nucleosides; UV spectrophotometric method; TLC

中图分类号: Q525; R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2000)03-0061-02

我国赤芝 [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst] 资源丰富, 药用历史悠久, 药用部位为子实体, 具补中益气, 滋补强壮, 扶正固本, 延年益寿等功效。现代药理实验证明, 赤芝在抗病毒, 抗肿瘤, 增强机体免疫力等方面有显著的药理活性。据报道赤芝中核苷类成分尿嘧啶、腺嘌呤、腺苷、尿苷等, 为其活性成分之一^[1]。目前, 赤芝药用产品有胶囊剂、片剂、冲剂及袋泡茶等, 所用的药材主要来源于广西及越南, 其他产地的赤芝利用率较低。为了充分开发利用赤芝药用资源, 本文在建立方法学的基础上, 首次报道用紫外分光光度法测定不同产地赤芝子实体中总核苷的含量, 对不同产地的赤芝资源进行评价, 并建立赤芝中尿嘧啶、腺嘌呤、腺苷及尿苷的薄层色谱鉴别方法。

1 实验部分

1.1 实验材料

不同产地赤芝 [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst] 均为市售所得, 来源见表 1。减压干燥, 粉碎, 过 3 号筛, 备用。

1.2 仪器与试剂

美国惠普 HP8452A 紫外分光光度计, 日本岛津 UV-260 紫外分光光度计; 所用试剂均为分析纯; 尿嘧啶、腺嘌呤、腺苷、尿苷均为瑞士 FLUKA 公司产品。

1.3 供试品溶液的制备

取样品粉末 1.0 g, 精密称定, 加 50% 乙醇溶液加热回流提取 3 次 (40 mL, 1 h; 20 mL, 0.5 h; 20 mL, 0.5 h), 过滤, 合并滤液, 蒸干, 加适量 50% 乙醇溶液使溶解, 加硅胶 1 g 拌匀, 烘干, 研细, 装入一预先装填好的硅胶小柱 (100~200 目,

1g, 内径 10~15 mm) 顶部, 以苯-无水乙醇 (体积比 4:1) 80 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加 50% 乙醇溶解并定容至 5 mL, 作为供试品溶液。

标准品溶液的制备: 精密称取尿嘧啶、腺嘌呤、腺苷、尿苷对照品各 10.0 mg, 分别置 100 mL 容量瓶中, 加 50% 乙醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为标准品溶液。

1.4 总核苷的含量测定方法

1.4.1 吸收曲线的绘制 精密吸取供试品溶液及尿嘧啶标准品溶液各 1.0 mL, 按照样品含量测定项操作, 在分光光度计上扫描, 得吸收光谱。供试品吸收曲线及最大吸收波长 260 nm, 与尿嘧啶标准品完全一致, 可以直接用分光光度法测定供试品总核苷的含量。

1.4.2 标准曲线制备 分别吸取对照品溶液 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 分别加 50% 乙醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 按照《中华人民共和国药典 (1995 年版)》的分光光度法试验^[2], 在 260 nm 波长处测定吸收度。

以吸收度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线。经回归统计, 得标准曲线方程: $A = 0.0729C + 0.0028$, $r = 0.9999$ 。浓度在 2.06 μg/mL ~ 10.30 μg/mL 范围内, 与吸收度呈线性关系。

1.4.3 样品的含量测定 精密吸取样品供试液 1.0 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加 50% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 在 260 nm 波长处测定吸收度。从标准曲线上读出供试品溶液相当于标准品溶液的浓度, 计算, 即得样品的总核苷含量。结果见

收稿日期: 2000-03-06

作者简介: 黄红兵, 女, 1967 年 4 月生, 湖南邵阳人, 硕士, 主管药师, 主要从事中药及其制剂的分析研究。

表1。

1.4.4 回收率试验 取已知含量的样品5份,加入一定量的尿嘧啶,按照样品含量测定的方法测定。计算,回收率平均值为100.6%,RSD为1.3%。

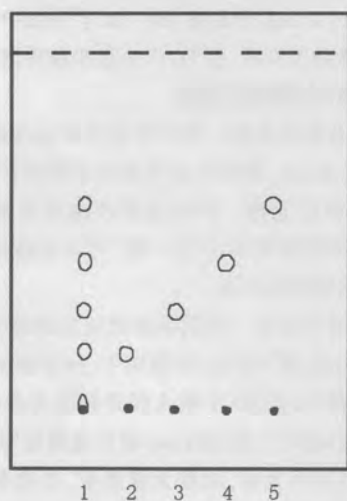
1.5 薄层色谱鉴别方法

取供试品溶液4 mL,蒸干,残留物加0.5 mL 50%乙醇溶解,作为样品液,吸取样品溶液及标准对照品溶液各1 μ L,分别点于同一块含4%磷酸氢二钠的用0.3% CMC制备的硅胶GF254薄层板上,经展开剂展开,取出,晾干后,置紫外光灯(254 nm)下检测。本实验比较了下列4种不同展开剂的展开效果(体积比):正丁醇:乙腈:0.1 M 醋酸铵:浓氨水=6:1:2:1;氯仿:醋酸乙酯:异丙醇:水:浓氨水=8:2:6:0.3:0.2;苯:醋酸乙酯:甲醇:异丙醇:水=6:3:1.5:1.5:0.3;苯:醋酸乙酯:甲醇:异丙醇:浓氨水=6:3:1.5:1.5:0.5。

2 讨论

2.1 赤芝中核苷类成分的薄层色谱比较

用薄层层析鉴别赤芝中的核苷类成分,样品经展开后,在与标准品相对应的位置上,均显相同的荧光淬灭斑点(图1)。4种展开剂的薄层层析效果以氯仿:醋酸乙酯:异丙醇:



1-供试品 sample; 2-尿苷 uridine; 3-腺苷 adenosine;
4-尿嘧啶 uracil; 5-腺嘌呤 adenine

图1 赤芝子实体核苷的TLC鉴别图谱
Fig. 1 Thin-layer chromatography of nucleosides in sporophore of *Ganoderma lucidum*

水:浓氨水=8:2:6:0.3:0.2的展开效果为最佳。用薄层色谱法鉴别赤芝子实体的核苷成分,具有简单易行、结果可靠、专属性强等优点。

此外,在供试液制备过程中还发现,用50%乙醇作提取剂,所得的样品供试液颜色深,干扰大,必须经过净化。因此,本实验对硅胶H小柱、硅胶小柱及氧化铝小柱的净化效果进行了比较,试验证明,硅胶小柱净化样品供试液,其效果优于其他二种预处理方法。

2.2 不同产地赤芝子实体中总核苷含量的比较

从试验结果(表1)可以看出,台湾、江苏吴江和广东连县产的赤芝子实体总核苷含量较高, $\geq 0.4\%$,其含量都高于现在利用较多的广西(0.33%)和越南(0.34%)产赤芝,而云南产赤芝总核苷含量普遍较低,均 $\leq 0.21\%$,因此如果将总核苷作为赤芝主要活性成分之一,台湾、江苏吴江和广东连县产的赤芝资源质量较好,具有较高的利用价值和开发前景。

表1 赤芝子实体中总核苷的含量

Table 1 Content of total nucleosides in sporophore of *Ganoderma lucidum*

| 样号 No. | 产地 Locality | 总核苷含量(%) Content of total nucleosides |
|-----------|--------------------------|--|
| 1 | 广西钦州 Qinzhou, Guangxi | 0.33 |
| 2 | 广东连县 Lianxian, Guangdong | 0.40 |
| 3 | 海南文昌 Wenchang, Hainan | 0.36 |
| 4 | 江西赣州 Ganzhou, Jiangxi | 0.31 |
| 5 | 江苏吴江 Wujiang, Jiangsu | 0.44 |
| 6 | 云南迪庆 Diqing, Yunnan | 0.21 |
| 7 | 云南丽江 Lijiang, Yunnan | 0.16 |
| 8 | 云南大理 Dali, Yunnan | 0.20 |
| 9 | 台湾 Taiwan | 0.46 |
| 10 | 越南 Viet Nam | 0.34 |

核苷类成分为赤芝的有效成分之一,化学性质稳定,而且在260 nm处均有最大吸收,因此通过总核苷含量的测定,可以控制中药赤芝的内在质量。样品经过硅胶小柱处理,可以消除干扰,测定结果稳定,重现性良好。

参考文献

- [1] 陈若芸. 灵芝三萜化学成分研究进展[J]. 药学报, 1990, 25(12):940.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 中华人民共和国药典一九九五年版,一部[M]. 广州:广东科学技术出版社, 1995. 附录31~32.

(责任编辑:惠红)