วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine
ปีที่ ๖ ฉบับที่ ๓ กันยายน-ธันวาคม ๒๕๕๑ Vol. 6 No. 3 September-December 2008

นิพนธ์ต้นฉบับ

สปอร์เห็ดหลินจือ: ทำไมต้องกะเทาะผนังหุ้มก่อนนำไปใช้ทางยา

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์*

บทคัดย่อ

เห็ดหลินจือเป็นสมุนไพรที่มีคุณค่าทางยามาก มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยมะเร็ง, ต้านปวด, ป้องกันเส้นประสาทเสื่อม, ลดน้ำตาลในเลือด, ลดไขมันในเลือด, ต้านออกซิเดชัน และต้านการอักเสบ เป็นต้น. สารสำคัญคือ สารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์และสารกลุ่มไทรเทอร์ปีน ซึ่งพบได้มากในส่วนสปอร์ และสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มมีสารสำคัญและฤทธิ์ทางยาดีกว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม. ทั้งนี้เพราะว่าผนังหุ้มสปอร์มีผนังหนา ๒ ชั้น. ผนังชั้นนอกเรียบ และผนังชั้นในมีผิวยื่นคล้ายหนามไปชนผนังชั้นนอก. ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายแอลกอฮอล์ หรือ ไดคลอโรมีเทนไม่สามารถสกัดสารสำคัญกลุ่มไทรเทอร์ปีนออกจากสปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม, การต้มสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มด้วยน้ำจะสกัดสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ได้บ้าง แต่ได้ปริมาณน้อยกว่าสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม. นอกจากนี้ในสภาวะกรดหรือด่างที่เลียนแบบสภาวะของกระเพาะและลำไส้ ตามลำดับ ก็ไม่สามารถทำลายผนังหุ้มของสปอร์ได้ ซึ่งพิสูจน์ได้จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน TLC โครมาโทแกรม และการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ. ฉะนั้นการกินสปอร์เห็ดหลินจือจึงต้องทำการกะเทาะเอาผนังหุ้มออกก่อนเพื่อให้สารสำคัญถูกสกัดออกจากสปอร์และดูดซึมเข้าร่างกายได้จึงจะมีคุณค่าทางยา.

คำสำคัญ : **เห็ดหลินจือ, สปอร์เห็ดหลินจือ, สภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร, สภาวะเลียนแบบลำไส้, พอลิแซ็กคาไรด์, สารกลุ่มไทรเทอร์ปีน**

ภูมิหลังและเหตุผล

เห็ดหลินจือ (Lingzhi หรือ Reishi) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ganoderma lucidum* (Leys. Ex Fr.) Karst. วงศ์ Ganodermataceae. หลินจือเป็นเห็ดที่ชาวจีนใช้ประโยชน์กันมานานกว่า ๔,๐๐๐ ปีแล้ว โดยใช้ในตำรับยาที่เป็นยาบำรุงสุขภาพ, ยาอายุวัฒนะ และยารักษาโรคตับอักเสบ โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดลมอักเสบ เป็นต้น[๑]. ส่วนที่เป็นยาคือ ส่วนดอก และสปอร์. ส่วนดอกมีรูปร่างคล้ายพัดหรือไต, ผิวเป็นมันวาวคล้ายเคลือบแลคเกอร์. สปอร์รูปไข่สีน้ำตาล ขนาด ๘.๕-๑๑.๕ × ๕-๗ ไมครอน,ปลายข้างหนึ่งตัดเป็นเหลี่ยม, มีผนังหนา ๒ ชั้น ชั้นนอกเรียบ และชั้นในยื่นคล้ายหนามไปชนผนังชั้นนอก. มีรายงานการศึกษาทางเวชกรรมว่าเห็ดหลินจือมีฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยมะเร็งปอด[๒], ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่[๓] และผู้ป่วยมะเร็งขั้นลุกลาม[๔], มีฤทธิ์ระงับปวด และมีความปลอดภัยในการใช้ในผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาทอยด์[๕], รักษาผู้ป่วยโรคประสาทเปลี้ย[๖], โรคทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง[๗,๘], อาการปวดหลังจากโรคงูสวัด[๙]. นอกจากนี้ยังพบว่าเห็ดหลินจือมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน[๑๐-๑๓], ต้านการเจริญของเนื้องอกและมะเร็ง[๑๐,๑๔-๑๖], ป้องกันเส้นประสาทเสื่อม[๑๗-๒๐], ลดน้ำตาลใน

*ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

เลือด[๒๑-๒๒], ลดไขมันในเลือด[๒๓-๒๔], ต้านออกซิเดชัน[๒๕-๒๗], ต้านการอักเสบ[๒๘,๒๙] เป็นต้น. สารตัวออกฤทธิ์สำคัญคือ สารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์[๑๐,๑๑,๑๓], สารกลุ่มไทรเทอร์ปีน[๓๐-๓๓], สารกลุ่มสเตอรอล[๓๔-๓๖], สารกลุ่มกรดไขมัน[๓๗] และสารกลุ่มโปรตีน[๓๘-๔๑]. สารสำคัญเหล่านี้พบในส่วนสปอร์มากกว่าส่วนดอก[๔๒] และสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มมีฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและต้านมะเร็งได้ดีกว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มและส่วนดอก[๔๓-๔๕]. การศึกษาทางพิษวิทยาของเห็ดหลินจือทั้งพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังพบว่า มีความเป็นพิษต่ำมากและมีความปลอดภัยในการใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน. จากข้อมูลข้างต้นทำให้สปอร์เห็ดหลินจือเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั่วโลก เช่นเดียวกับประเทศไทย ซึ่งได้รับความสนใจอย่างมากในการใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องดื่ม แต่ส่วนใหญ่แปรรูปจากส่วนดอก. เท่าที่ศึกษาทบทวนพบว่าในประเทศไทยมีการศึกษาสปอร์เห็ดหลินจือน้อยมาก และไม่มีเครื่องกะเทาะผนังหุ้มของสปอร์ จึงมีคำถามว่าการกินเห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มจะมีคุณค่าทางยาหรือไม่ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพิสูจน์ว่า สปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสปอร์และที่กะเทาะผนังหุ้มมีปริมาณสารสำคัญต่างกันหรือไม่ โดยทำการศึกษาในสภาวะที่เลียนแบบกรดในกระเพาะอาหารและสภาวะด่างในลำไส้ และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน, ตรวจสอบ TLC โครมาโทแกรม และวิธีทางเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์และไทรเทอร์ปีน เพื่อเป็นข้อมูลใช้ในการวิจัยและพัฒนาสปอร์เห็ดหลินจือต่อไป.

ระเบียบวิธีศึกษา

๑. เครื่องมือ:

กล้องถ่ายภาพ (OLYMPUS: CAMAIA C-7070 WIDE ZOOM DIRECT IMAGE X1 UTV1X-2) และกล้องจุลทรรศน์ ๓ ตา (OLYMPUS C-5060-ADUS 5F13314 SERIES U-CMAP3), เครื่องปั่นเหวี่ยง (KUBOTA® 6930), Vortex mixer (Vortex-Genie 2®, Scientific Industries, USA), Digital water bath (Eyela® SB-651), Lyophilizer (Freeze Dry, Christ® LOC-1m Model Alpha 1-4), pH meter (Russell® Model RL150), Rota vacuum evaporator (Eyela® N-N series), Scanning Electron Microscope (Jeol รุ่น JSM-5410LV Japan), Ultrasonic water bath (Elma® Transsonic Digitals Model T760), เครื่องมือทดลองและตรวจสอบผลบนไมโครเพลต (Thermomax® microplate reader).

๒. ตัวอย่างสปอร์เห็ดหลินจือ

สปอร์เห็ดหลินจือพันธุ์ G2 ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม ได้จากโครงการพิเศษสวนเกษตรเมืองงายในพระองค์สมเด็จพระนางเจ้าฯ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดเชียงใหม่, สปอร์เห็ดหลินจือพันธุ์ G9 ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มและที่กะเทาะผนังหุ้มจากประเทศจีน (Chang Baishan/Jilin) และสปอร์เห็ดหลินจือพันธุ์ G5 ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มและที่กะเทาะผนังหุ้ม จากประเทศจีน (Liaoning/Jilin).

๓. การศึกษาลักษณะจุลทรรศน์

การศึกษาลักษณะของสปอร์เห็ดหลินจือโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกราด (Scanning Electron Microscope, SEM). เริ่มด้วยนำสปอร์ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน ๕๐°ซ เป็นเวลา ๗ วัน แล้วนำไปวางบน slab โดยยึดติดด้วยเทปกาว ๒ หน้า. จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่ว slab แล้วนำไปฉาบด้วยทองคำ นำเข้าเครื่อง SEM ตรวจสอบลักษณะของสปอร์.

๔. การหาปริมาณสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์

ก. การวิเคราะห์หาปริมาณทั้งหมด[๔๖]

เตรียมสารสกัดน้ำ: ชั่งตัวอย่างสปอร์ ๑๐๐ มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น ๕ มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือดเป็นเวลา ๓๐ นาที, นำน้ำต้มที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง KUBOTA® 6930 ที่ความเร็ว ๙,๐๐๐ รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ ๒๐°ซ เป็นเวลา ๓๐ นาที. แยกเฉพาะส่วนใส แล้วทำให้แห้งโดยวิธีระเหยแห้งแบบเย็นด้วยเครื่อง Lyophilizer (Freeze Dryer, Christ® LOC-1m) จะได้สารสกัดน้ำแห้ง. นำไปชั่งน้ำหนัก เก็บในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิ ๐°ซ.

การวิเคราะห์ปริมาณ: นำผงสารสกัดแห้งปริมาณ ๑.๐ มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น ๑ มิลลิลิตร, ดูดสารละลาย ๑๕ ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก โดยแต่ละตัวอย่างทำ ๓ ซ้ำ เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ ๒๐๐ ไมโครลิตร เติมฟีนอล ๐.๕% ๐.๒ มิลลิลิตร และตามด้วยเติมกรดกำมะถันเข้มข้น ๑.๐ มิลลิลิตร, ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixture (ทำอย่างรวดเร็ว), ดูดสารละลายใส่ลงในไมโคร

เพลท แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๔๙๐ นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกลูโคส.

ข. การวิเคราะห์ปริมาณกรดยูโรนิคทั้งหมด[๔๗]

ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ โดยการทำปฏิกิริยากับสารละลาย m-hydroxydiphenyl solution และสารละลาย conc. $H_2SO_4/Na_2B_4O_7$ ตรวจสอบค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๕๒๐ นาโนเมตร. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดกลูโคโลนิก.

ค. การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มไทรเทอร์ปีน[๔๘]

ชั่งสปอร์ ๐.๒๕ กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ๕ มิลลิลิตร, กรอง, ดูดสารสกัด ๐.๑ มิลลิลิตร นำไประเหยให้แห้งบนหม้ออังไอน้ำ, เติมน้ำยา vanillin ๕%/glacial acetic acid ๐.๔ มิลลิลิตร, เติมกรด perchloric acid ๑.๐ มิลลิลิตร นำไปอบ ที่ ๖๐°ซ เป็นเวลา ๑๕ นาที, แล้วแช่ในอ่างน้ำแข็ง เติม glacial acetic acid ๕.๐ มิลลิลิตร, ตั้งทิ้งไว้ ๑๕ นาที, นำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis ที่ความยาวคลื่น ๕๔๘ นาโนเมตร. นำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวนหาปริมาณสารไทรเทอร์ปีนโดยเปรียบเทียบกับ ursolic acid.

ง. การตรวจสอบ Thin layer chromatographic fingerprints ของสารสกัดแอลกอฮอล์[๔๙]

ชั่งสปอร์เห็ดหลินจือ ๒๐ มิลลิกรัม เติมเอทานอล ๙๕% ๑ มิลลิลิตร, นำไปเขย่าเป็นเวลา ๑๕ นาที, ดูดส่วนใสไปทำ TLC fingerprints ซึ่งมีวัฏภาคคงที่เป็น silica gel 60 GF254 และวัฏภาคเคลื่อนที่คือ hexane : ethyl acetate (๗ : ๓). ตัวตรวจสอบคือ แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น ๒๕๔ และ ๓๖๖ นาโนเมตร (UV 254 nm, UV 366 nm) และน้ำยาพ่น anisaldehyde /sulfuric acid.

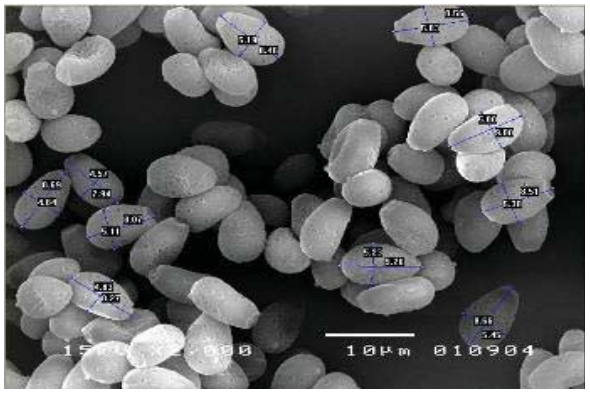
จ. การศึกษาสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม ในสภาวะกรดและด่างเทียบเท่ากระเพาะอาหารและลำไส้

ชั่งสปอร์หลินจือพันธุ์ G2, G9 ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม และสปอร์หลินจือพันธุ์ G9 ที่กระเทาะผนังหุ้ม ตัวอย่างละ ๖๐ มิลลิกรัม จำนวน ๒ ขวด. ขวดที่ ๑ เติมกรดเกลือ ๐.๑ นอร์มัล ๒ มิลลิลิตร (พีเอช ๑-๓). ขวดที่ ๒ เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ๒ มิลลิลิตร (พีเอช ๖.๕-๗.๕), ทำการ sonicate ที่อุณหภูมิ ๓๗°ซ เป็นเวลา ๒ และ ๓ ชั่วโมง ตามลำดับ. หลังจากนั้นนำไประเหยแห้ง แล้วตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และวิธี Thin layer chromatography (TLC).

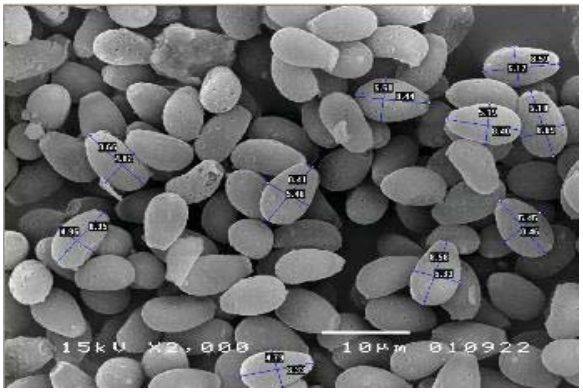
ผลการศึกษา

๑. ลักษณะจุลทรรศน์ของสปอร์

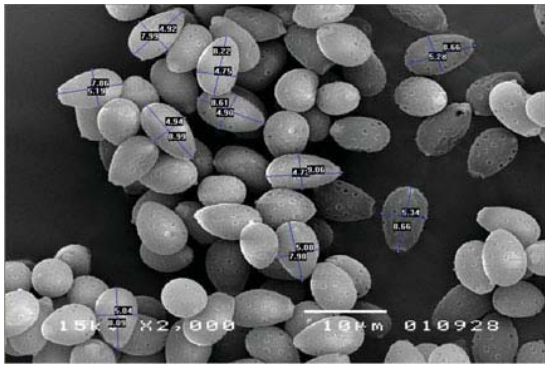
การพิจารณาลักษณะภายนอกของสปอร์เห็ดหลินจือโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า สปอร์ของเห็ดหลินจือมีรูปร่างกลมรี รูปไข่ ปลายด้านหนึ่งเป็นปลายตัด มีขนาด ๔.๕-๕.๙ x ๗.๘-๙.๒ ไมครอน, ผิวขรุขระ ผนังหนา ๒ ชั้น และสปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G5 และ G9 จากประเทศจีน มีความสมบูรณ์มากกว่าสายพันธุ์ G2 ซึ่งแม้จะอยู่ในสภาวะปรกติก็ยังพบสปอร์บางส่วนที่ผนังหุ้มเกิดการแตก และสปอร์บางส่วนไม่สมบูรณ์ ส่วนสปอร์เห็ดที่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G5 และ G9 พบว่าสปอร์เกิดการแตกจนไม่เห็นเป็นรูปสปอร์ (รูปที่ ๑-๕).



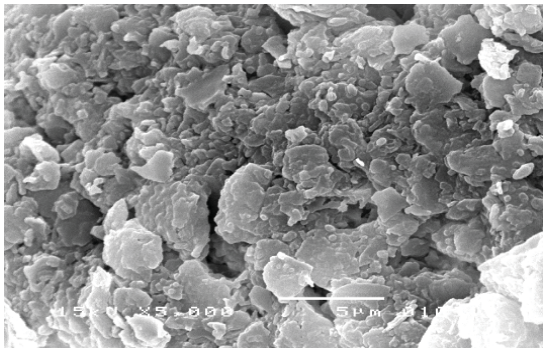
รูปที่ ๑ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ของสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G2 (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)



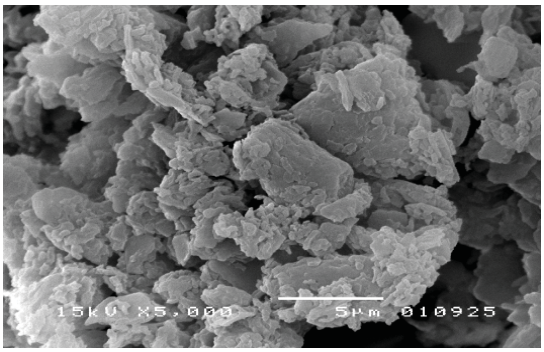
รูปที่ ๒ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ของสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G9 (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)



รูปที่ ๓ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G5 (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)



รูปที่ ๔ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G9 (กำลังขยาย ๕,๐๐๐ เท่า)



รูปที่ ๕ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G5 (กำลังขยาย ๕,๐๐๐ เท่า)

๒. **ปริมาณสารสำคัญ** ปริมาณสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์และสารกลุ่มไทรเทอร์ปีนสปอร์ที่ไม่กะเทาะและที่กะเทาะผนังหุ้มมีปริมาณสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ร้อยละ ๒.๕-๓.๘ แต่สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มมีปริมาณสารมากกว่าเล็กน้อย. ส่วนสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มมีปริมาณสารสกัดแอลกอฮอล์มากกว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มประมาณ ๑๐-๑๕ เท่า และมีสารกลุ่มไทรเทอร์ปีนมากกว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม (ตารางที่ ๑).

๓. การตรวจสอบวิธี TLC fingerprints ของสารสกัดแอลกอฮอล์

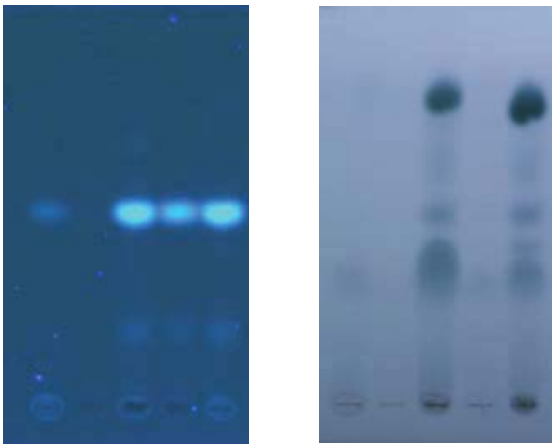
สารสกัดเอทานอลของสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มมีสารกลุ่มไทรเทอร์ปีนในปริมาณและชนิดมากกว่าสารสกัดแอลกอฮอล์ของสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม ซึ่งจะเห็นแถบสารที่จางมาก ไม่ว่าจะตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น ๓๖๖ นาโนเมตร หรือพ่นด้วยน้ำยา anisaldehyde/sulfuric acid (รูปที่ ๖).

๔. การศึกษาสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม ในสภาวะกรดและด่างเทียบเท่าสภาวะในกระเพาะอาหารและลำไส้ตามลำดับ

จากข้อมูลจาก TLC ของสารสกัดแอลกอฮอล์ของสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม พบแถบสารได้น้อย และปริมาณของสารกลุ่มไทรเทอร์ปีนก็มีปริมาณน้อยกว่าสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายไม่ว่าจะเป็นแอลกอฮอล์ หรือไดคลอโรมีเทน ไม่สามารถสกัดสารไทรเทอร์ปีน ออกจากสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม จึงมีคำถามว่าการกินสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม กรดในกระเพาะอาหาร หรือด่างในลำไส้จะสามารถย่อยผนังหุ้มสปอร์ได้หรือไม่ ซึ่งถ้าสภาพกรดและด่างสามารถย่อยได้ ก็ไม่มีความจำเป็นที่ต้องกะเทาะผนังหุ้มก่อนกิน. การศึกษาครั้งนี้พบว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มในสภาพกรดและด่าง

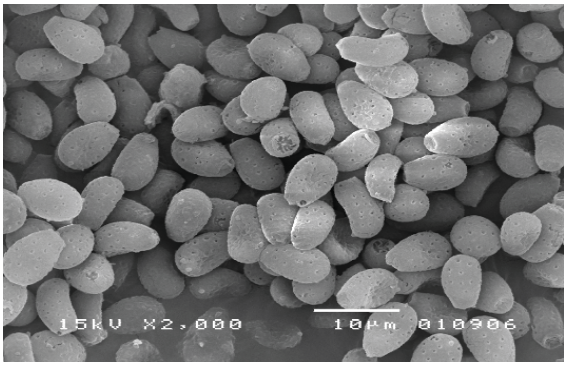
ตารางที่ ๑ ปริมาณสารสำคัญในสปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มและที่กะเทาะผนังหุ้ม

ตัวอย่าง	% yield ของสารสกัดน้ำ	% พอลิแซ็ก–คาไรด์รวม	% กรดยูโรนิครวม	% yield ของสารสกัดแอลกอฮอล์	% ไทรเทอร์ปีนรวม
G2 สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม	๗.๓๔	๓.๖๔	๐.๑๘	๓.๓๗	๐.๐๕
G9 สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม	๔.๐๙	๒.๔๕	๐.๐๔	๒.๐๔	๐.๐๖
G9 สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม	๕.๖๔	๓.๕๗	๐.๑๘	๑๑.๖๓	๐.๓๖
G5 สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม	๖.๒๑	๒.๕๕	๐.๑๗	๑.๗๘	๐.๐๑
G5 สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม	๕.๕๑	๒.๙๒	๐.๒๖	๒๘.๒๘	๐.๕๖



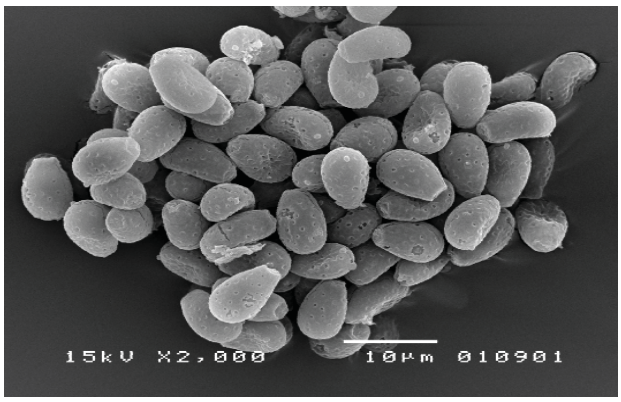
Adsorbent : Silica gel 60 GF_{254};
Solvent system : hexane : ethyl acetate (7 : 3)
Detectors: A = UV 366 nm, B = anisaldehyde / sulfuric acid
๑ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G2; ๒ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G5; ๓ = สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G5; ๔ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9; ๕ = สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9

รูปที่ ๖ TLC โครมาโทแกรมของสารสกัดแอลกอฮอล์สปอร์เห็ดหลินจือ

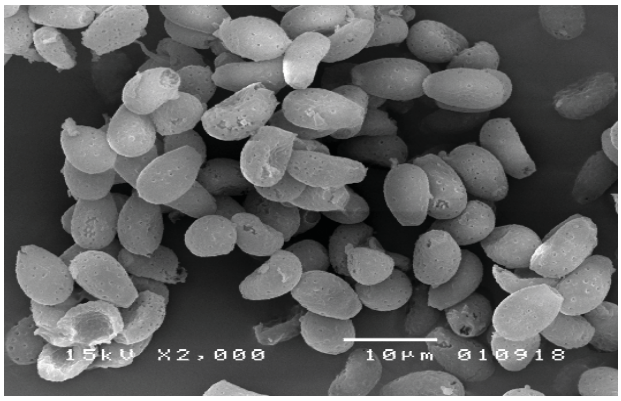


รูปที่ ๗ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G2 หลังจากทำปฏิกิริยากับกรด ๐.๑ N HCl ในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)

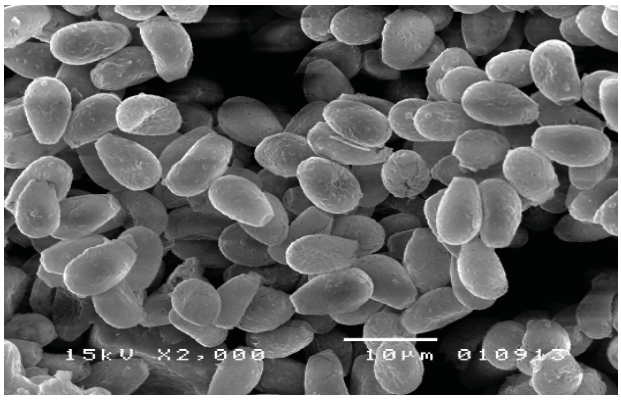
ตามวิธีของเภสัชตำรับสหรัฐอเมริกา ในสภาพเทียบเท่าพีเอช ๑-๓ ในกระเพาะ โดยการเติมกรดเกลือ ๐.๑ นอร์มัล ที่อุณหภูมิ ๓๗°ซ เป็นเวลา ๒ ชั่วโมง ในสภาพเทียบเท่า พีเอช ๖.๕-๗.๕ ในลำไส้ โดยการเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ ๓๗°ซ เป็นเวลา ๓ ชั่วโมง พบว่าผนังหุ้มของสปอร์เห็ดหลินจือหลังผ่านการทำปฏิกิริยากับกรด และด่างในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหารและลำไส้นั้น เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย อาจเกิดการกร่อน และแตกบางส่วนเมื่อเทียบกับสปอร์ใน



รูปที่ ๘ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G2 หลังจากทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตในสภาวะเลียนแบบลำไส้เล็ก (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)

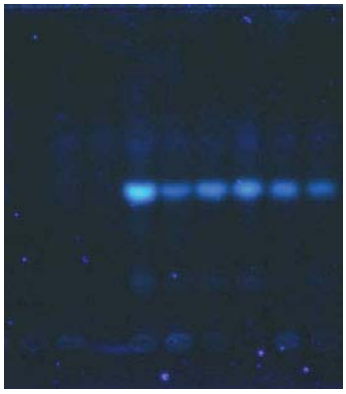


รูปที่ ๙ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G9 หลังจากการทำปฏิกิริยากับกรดเกลือ ๐.๑ นอร์มัล ในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)

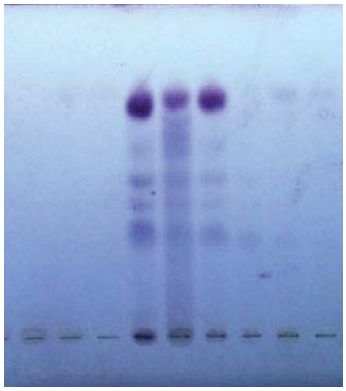


รูปที่ ๑๐ ภาพถ่ายสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มสายพันธุ์ G9 หลังจากการทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ในสภาวะเลียนแบบลำไส้เล็ก (กำลังขยาย ๒,๐๐๐ เท่า)

รูป A ๑ ๒ ๓ ๔ ๕ ๖ ๗ ๘ ๙



รูป B ๑ ๒ ๓ ๔ ๕ ๖ ๗ ๘ ๙



รูป C ๑ ๒ ๓ ๔ ๕ ๖ ๗ ๘ ๙

Adsorbent: Silica gel 60 GF254; Solvent system: hexane : ethyl acetate (7 : 3)

Detectors: A = UV 254 nm, B = UV 366 nm, C = anisaldehyde / sulfuric acid

๑ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G2, ๒ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G2/acid; ๓ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G2/base; ๔ = สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9; ๕ = สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9/acid; ๖ = สปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9/base; ๗ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9; ๘ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9/acid; ๙ = สปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มพันธุ์ G9/base

รูปที่ ๑๑ TCL โครมาโทรแกรม ของสารสกัดแอลกอฮอล์ของสปอร์เห็ดหลินจือที่อยู่ในสภาวะกรดเทียบเท่ากระเพาะอาหาร พีเอช = ๑.๒ และในภาวะเบสเทียบเท่าลำไส้เล็กพีเอช = ๗.๐

สภาวะปรกติ (รูปที่ ๗-๑๐), และจาก TLC โครมาโทแกรม ของสารสกัดแอลกอฮอล์สปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม ในภาวะกรดเทียบเท่ากระเพาะอาหาร และในภาวะด่างเทียบเท่าลำไส้เล็ก มีแถบสารไม่แตกต่างจากสปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มในสภาวะปรกติ แต่จะแตกต่างจาก TLC โครมาโทแกรมของสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม ซึ่งมีปริมาณสารที่ให้ผลบวกกับน้ำยากรด anisaldehyde/sulfuric มากกว่า (รูปที่ ๑๑).

วิจารณ์

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายแอลกอฮอล์หรือไดคลอโรมีเทน ไม่สามารถสกัดสารสำคัญกลุ่มไทรเทอร์ปีนออกจากสปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้ม โดยพบว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มมีปริมาณค่าร้อยละของสารสกัดแอลกอฮอล์ และปริมาณสารไทรเทอร์ปีนรวมน้อยกว่าสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม และพบแถบสารใน TLC โครมาโทแกรมน้อยกว่าสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม. การต้มสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มด้วยน้ำสกัดสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ได้บ้าง แต่ปริมาณน้อยกว่าสปอร์ที่กะเทาะผนังหุ้ม. นอกจากนี้ในสภาวะกรดหรือด่างแบบสภาวะของกระเพาะและลำไส้ตามลำดับ ก็ไม่สามารถทำลายผนังหุ้มของสปอร์ได้ โดยการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนบ่งชี้ให้เห็นว่า ภาวะทั้งกรดและด่างดังกล่าวสามารถทำให้ผนังหุ้มสปอร์เกิดความเสียหายเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่ไม่มากพอที่จะปลดปล่อยสารสำคัญภายในออกมาได้ และ TLC โครมาโทแกรม ก็แสดงให้เห็นว่าสปอร์ที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มมีปริมาณสารกลุ่มไทรเทอร์ปีนน้อย ซึ่งสอดคล้องกับกรณีผู้ป่วยที่โรงพยาบาลศิริราช ที่รายงานผู้ป่วยคนหนึ่งที่กินผงสปอร์เห็ดหลินจือแล้วมีอาการท้องเสีย และตรวจอุจจาระพบสปอร์เห็ดหลินจือที่มีขนาดและรูปร่างคล้ายกับไข่พยาธิ ทำให้อาจเข้าใจผิดว่าอาการท้องเสียเกิดจากพยาธิ ซึ่งเมื่อหยุดกินผงเห็ดหลินจือ อาการต่าง ๆ ก็ดีขึ้น[๕๐]. กรณีศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการกินสปอร์เห็ดหลินจือที่ไม่กะเทาะผนังหุ้มร่างกายคนไม่สามารถย่อยผนังหุ้มได้ จึงพบสปอร์ในอุจจาระ. ฉะนั้นการกินสปอร์เห็ดหลินจือจึงต้องกะเทาะผนังหุ้มเสียก่อนเพื่อให้สารสำคัญได้ถูกสกัดออกมาและดูดซึมเข้าร่างกายได้ จึงจะมีคุณค่าทางยา.

กิตติกรรมประกาศ

สถาบันการแพทย์ไทย-จีน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และกรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข ได้สนับสนุนเงินทุนวิจัย. โครงการพิเศษสวนเกษตรเมืองงายในพระองค์สมเด็จพระนางเจ้าฯ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดเชียงใหม่, นายแพทย์สุรพล รักประทุม และคุณมาลี วัชโรทัย ได้อนุเคราะห์ให้ตัวอย่างสปอร์เห็ดหลินจือ.

เอกสารอ้างอิง

๑. ชยันต์ พิเชียรสุนทร. เห็ดหลินจือกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา. บทความบรรยายในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์สุขภาพ ครั้งที่ ๑๕. วันที่ ๑๗ กรกฎาคม ๒๕๔๐ ณ อาคารรวมวิจัยและบัณฑิตศึกษา, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, จังหวัดเชียงใหม่; ๒๕๔๐.

๒. Gao Y, Tang W, Dai X, Gao H, Chen G, Ye J, et al. Effects of water-soluble *Ganoderma lucidum* polysaccharides on the immune functions of patients with advanced lung cancer. J Med Food 2005;8:159-68.

๓. Chen X, Hu ZP, Yang XX, Huang M, Gao Y, Tang W, et al. Monitoring of immune responses to a herbal immuno-modulator in patients with advanced colorectal cancer. Int Immunopharmacol 2006;6:499-508.

๔. Gao Y, Zhou S, Jiang W, Huang M, Dai X. Effects of ganopoly (a *Ganoderma lucidum* polysaccharide extract) on the immune functions in advanced-stage cancer patients. Immunol Invest 2003;32:201-15.

๕. Li EK, Tam LS, Wong CK, Li WC, Lam CW, Wachtel-Galor S, et al. Safety and efficacy of *Ganoderma lucidum* (lingzhi) and San Miao San supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot trial. Arthritis Rheum 2007;57: 1143-50.

๖. Tang W, Gao Y, Chen G, Gao H, Dai X, Ye J, et al. A randomized, double-blind and placebo-controlled study of a *Ganoderma lucidum* polysaccharide extract in neurasthenia. J Med Food 2005;8:53-8.

๗. Noguchi M, Kakuma T, Tomiyasu K, Kurita Y, Kukihara H, Konishi F, et al. Effect of an extract of *Ganoderma lucidum* in men with lower urinary tract symptoms: a double-blind, placebo-controlled randomized and dose-ranging study. Asian J Androl 2008;10:651-8.

๘. Noguchi M, Kakuma T, Tomiyasu K, Yamada A, Itoh K, Konishi F, et al. Randomized clinical trial of an ethanol extract of *Ganoderma lucidum* in men with lower urinary tract symptoms. Asian J Androl 2008;10:777-85.

๙. Hijikata Y, Yasuhara A, Sahashi Y. Effect of an herbal formula containing *Ganoderma lucidum* on reduction of herpes zoster pain: a pilot clinical trial. Am J Chin Med 2005;33:517-23.

๑๐. Lin ZB, Zhang HN. Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms. Acta Pharmacol Sin 2004;25:1387-95.

๑๑. Nonaka Y, Shibata H, Nakai M, Kurihara H, Ishibashi H, Kiso Y, et al. Anti-tumor activities of the antlered form of *Ganoderma lucidum* in allogeneic and syngeneic tumor-bearing mice. Biosci Biotechnol Biochem 2006;70:2028-34.

๑๒. Zhu XL, Chen AF, Lin ZB. *Ganoderma lucidum* polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice. J Ethnopharmacol 2007;111:219-26.

๑๓. Ma C, Guan SH, Yang M, Liu X, Guo DA. Differential protein expression in mouse splenic mononuclear cells treated with polysaccharides from spores of *Ganoderma lucidum*. Phytomedicine 2008;15:268-76.

๑๔. Cheng KC, Huang HC, Chen JH, Hsu JW, Cheng HC, Ou CH, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides in human monocytic leukemia cells: from gene expression to network construction. BMC Genomics 2007;8:411.

๑๕. Gao Y, Gao H, Chan E, Tang W, Xu A, Yang H, et al. Antitumor activity and underlying mechanisms of ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*, in mice. Immunol Invest 2005;34:171-98.

๑๖. Li YB, Wang R, Wu HL, Li YH, Zhong LJ, Yu HM, et al. Serum amyloid A mediates the inhibitory effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on tumor cell adhesion to endothelial cells. Oncol Rep 2008;20:549-56.

๑๗. Zhao HB, Lin SQ, Liu JH, Lin ZB. Polysaccharide extract isolated from *Ganoderma lucidum* protects rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury. J Pharmacol Sci 2004;95:294-8.

๑๘. Zhu WW, Liu ZL, Xu HW, Chu WZ, Ye QY, et al. Effect of the oil from *Ganoderma lucidum* spores on pathological changes in the substantia nigra and behaviors of MPTP-treated mice. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 2005;25:667-71.

๑๙. Chen LW, Wang YQ, Wei LC, Shi M, Chan YS. Chinese herbs and herbal extracts for neuroprotection of dopaminergic neurons and potential therapeutic treatment of Parkinson's disease. CNS Neurol Disord Drug Targets 2007;6:273-81.

๒๐. Fatmawati S, Kurashiki K, Takeno S, Kim YU, Shimizu K, Sato M, et al. The inhibitory effect on aldose reductase by an extract of *Ganoderma lucidum*. Phytother Res 2009;23:28-32.

๒๑. Seto SW, Lam TY, Tam HL, Au AL, Chan SW, Wu JH, et al. Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/diabetic (+db/+db) mice. Phytomedicine 2008; Dec 22 [Epub ahead of print].

๒๒. Zhang HN, Lin ZB. Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. Acta Pharmacol Sin 2004;25:191-5.

๒๓. Chen WQ, Luo SH, LI HZ, Yang H. Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on serum lipids and lipoperoxidation in experimental hyperlipidemic rats. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 2005;30:1358-60.

๒๔. Berger A, Rein D, Kratky E, Monnard I, Hajjaj H, Meirim I, et al. Cholesterol-lowering properties of *Ganoderma lucidum* in vitro, ex vivo, and in hamsters and minipigs. Lipids Health Dis 2004;3:2-12.

๒๕. Wang SQ, Qin WB, Kang YM, Ma XR, Liu L, Liu JX, et al. Intervention effect of *Ganoderma lucidum* spores on the changes of XOD, MPO and SDH in the testis tissue of NIDDM rats. Zhonghua Nan Ke Xue 2008;14:792-5.

๒๖. Wu Y, Wang D. A new class of natural glycopeptides with sugar moiety-dependent antioxidant activities derived from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies. J Proteome Res 2009;8:436-42.

๒๗. You YH, Lin ZB. Antioxidant effect of *Ganoderma* polysaccharide peptide. Yao Xue Xue Bao 2003;38:85-8.

๒๘. Ko HH, Hung CF, Wang JP, Lin CN. Antiinflammatory triterpenoids

and steroids from *Ganoderma lucidum* and G. tsugae. Phytochemistry 2008;69:234-9.

๒๙. Ho YW, Yeung JS, Chiu PK, Tang WM, Lin ZB, Man RY, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide reduced the production of proinflammatory cytokines in activated rheumatoid synovial fibroblast. Mol Cell Biochem 2007;301:173-9.

๓๐. Akihisa T, Nakamura Y, Tagata M, Tokuda H, Yasukawa K, Uchiyama E, et al. Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum*. Chem Biodivers 2007;4:224-31.

๓๑. Miyamoto I, Liu J, Shimizu K, Sato M, Kukita A, Kukita T, et al. Regulation of osteoclastogenesis by ganoderic acid DM isolated from *Ganoderma lucidum*. Eur J Pharmacol 2009;602:1-7.

๓๒. Yue QX, Cao ZW, Guan SH, Liu XH, Tao L, Wu WY, et al. Proteomic characterization of the cytotoxic mechanism of ganoderic acid D and computer automated estimation of the possible drug-target network. Mol Cell Proteomics 2008;7:949-61.

๓๓. Wang X, Liu R, Sun J, Guan S, Yang M, Bi K, et al. HPLC method for the determination and pharmacokinetic studies of four triterpenoids in rat plasma after oral administration of *Ganoderma lucidum* extract. Biomed Chromatogr 2007;21:389-96.

๓๔. Zhang CR, Yang SP, Yue JM. Sterols and triterpenoids from the spores of *Ganoderma lucidum*. Nat Prod Res 2008;22:1137-42.

๓๕. Zhang XQ, Pang GL, Cheng Y, Wang Y, Ye WC. Chemical constituents of the spores of *Ganoderma lucidum*. Zhong Yao Cai 2008;31:41-4.

๓๖. Yuan JP, Wang JH, Liu X. Distribution of free and esterified ergosterols in the medicinal fungus Ganoderma lucidum. Appl Microbiol Biotechnol 2007;77:159-65.

๓๗. Fukuzawa M, Yamaguchi R, Hide I, Chen Z, Hirai Y, Sugimoto A, et al. Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *Ganoderma lucidum* (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity. Biol Pharm Bull 2008;31:1933-7.

๓๘. Tong MH, Chien PJ, Chang HH, Tsai MJ, Sheu F. High processing tolerances of immunomodulatory proteins in Enoki and Reishi mushrooms. J Agric Food Chem 2008;56:3160-6.

๓๙. Shi Y, Sun J, He H, Guo H, Zhang S. Hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* peptides against D-galactosamine-induced liver injury in mice. J Ethnopharmacol 2008;117:415-9.

๔๐. Wang HX, Ng TB. A laccase from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. Appl Microbiol Biotechnol 2006;72:508-13.

๔๑. Wang H, Ng TB. Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. Peptides 2006;27:27-30.

๔๒. Gao JJ, Nakamura N, Min BS, Hirakawa A, Zuo F, Hattori M. Quantitative determination of bitter principles in specimens of *Ganoderma lucidum* using high-performance liquid chromatography and its application to the evaluation of ganoderma products. Chem Pharm Bull 2004;52:688-95.

๔๓. Yue GG, Fung KP, Leung PC, Lau CB. Comparative studies on the immunomodulatory and antitumor activities of the different parts of fruiting body of *Ganoderma lucidum* and Ganoderma spores. Phytother Res 2008;22:1282-91.

๔๔. Yuen JW, Gohel MD. The dual roles of *Ganoderma* antioxidants on urothelial cell DNA under carcinogenic attack. J Ethnopharmacol 2008;118:324-30.

๔๕. Wang PY, Wang SZ, Lin SQ, Lin ZB. Comparison of the immunomodulatory effects of spore polysaccharides and broken spore polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum* on murine splenic lymphocytes and peritoneal macrophages in vitro. Beijing Da Xue Xue Bao 2005;37:569-74.

๔๖. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem 1956;28:350-6.

๔๗. Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acid. Anal Biochem 1973;54:484-9.

๔๘. Chen YXM, Gong XF. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. J Food Eng 2007;81:162-70.

๔๙. The United States Pharmacopeia 29/ The National Formulary 24. MD: The United States Pharmacopeial Convention; 2006.

๕๐. ดาราวรรณ วนะชิวนาวิน, อนงค์ เพียรกิจกรรม, อังคณา ฉายประเสริฐ, พันธ์พบ เลิศฉายต่วน, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, พิสิฏฐ์ ชินบุตร. *Ganoderma lucidum*: a cause of pseudoparasitosis. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006;37:1099-102.

Abstract

Ganoderma lucidum Spore: The Reason Why Its Wall Should be Broken for Medicinal Use

Noppamas Soonthornchareonnon*

**Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University*

***Ganoderma lucidum,* commonly known as *reishi* or *lingzhi* mushroom, is regarded as a precious high-value medicinal herb. It can stimulate the immune system in cancer patients. It is used to relieve pain, protect against nerve degeneration, reduce blood sugar and cholesterol, and it shows anti-oxidative and anti-inflammatory activites. The active substances are polysaccharides and triterpenes which are found in the spores. Broken spores contain more active compounds and are more active than unbroken spores because of their thick two-layer walls. The result of this study showed that alcohol and dichloromethane did not extract the triterpenes from unbroken spores. Moreover, boiling unbroken spores in water can extract some polysaccharides but their quantity is less than that of broken spores. Furthermore, the acid or alkaline condition which simulates gastric or intestinal conditions, respectively, is not able to break the spore wall as proven by electron microscopic examination, TLC chromatograms, or active substances analysis. Therefore, broken spores should be used as a medicinal product for oral administration in order to achieve higher amounts of the active principles, better gastrointestinal absorption and hence better therapeutic value.**

Key words: ***Ganoderma lucidum,* reishi spore, lingzhi spore, simulated gastric conditions, simulated intestinal conditions, polysaccharides, triterpenes**