

人参灵芝胶囊缓解体力疲劳小鼠的试验

苏婧婧, 李庆林* (安徽中医药大学科研实验中心, 新安医学教育部重点实验室, 安徽合肥 230038)

摘要 [目的] 考察人参灵芝胶囊缓解实验性小鼠体力疲劳的作用。[方法] 小鼠连续灌胃给予不同剂量(0.9、0.6、0.3 g/kg)的人参灵芝胶囊, 阴性对照组给予等量蒸馏水。连续灌胃 30 d 后, 测定小鼠负重游泳时间、运动后血清尿素含量、血乳酸含量、肝糖原含量。[结果] 与阴性对照组比较, 高、中剂量组小鼠负重游泳时间显著延长, 各给药组血清尿素含量明显降低, 各给药组肝糖原含量明显升高, 中剂量组小鼠游泳后 20 min 血乳酸值和血乳酸曲线下面积显著降低。[结论] 人参灵芝胶囊具有缓解体力疲劳的作用。

关键词 人参灵芝胶囊; 缓解体力疲劳; 负重游泳时间; 血清尿素; 血乳酸; 肝糖原

中图分类号 R 285.5 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)05-0176-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.05.049

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on the Effects of the Ginseng Ganoderma Capsules on Physical Fatigue Alleviation in Mice

SU Jing-jing, LI Qing-lin (Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Anhui Province Key Laboratory of R&D of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230038)

Abstract [Objective] The research aimed to investigate the alleviate physical fatigue effects of ginseng ganoderma capsules in mice. [Method] Kunming male mice were randomly divided into 4 groups according to different dose, the low, the medium and the high dosage groups of ginseng ganoderma capsules (0.3, 0.6, 0.9 g/kg) and the blank control group. Each mouse was orally administered once a day for 30 days. After the end of the administration, all the mice were evaluated for their weight loaded swimming duration, the contents of blood urea nitrogen, blood lactic acid and the hepatic glycogen. [Result] Compared with the blank control group, the high and medium dose of ginseng ganoderma capsules groups could prolong the loaded swimming time, the three dose could decrease the contents of blood urea and increase the content of hepatic glycogen. In addition, the medium dose of ginseng ganoderma capsules group could reduce the blood lactate value and the area under the curve of blood lactate after 20 min swimming in mice. [Conclusion] Ginseng Ganoderma capsules possess relieving physical fatigue effect.

Key words Ginseng ganoderma capsules; Alleviate physical fatigue; Load swimming time; Blood urea; Blood lactate; Hepatic glycogen

卫生部《保健食品检验与评价技术规范》对疲劳的定义是机体过用而引起的功能降低并出现机体不适的状态^[1], 主要表现为四肢无力、腰酸腿软、气力不足^[2]。疲劳的产生主要生理本质是由于代谢产物蓄积, 包括乳酸、肝糖原、氮的代谢产物、自由基等^[3-4]。中医认为, 疲劳现象的出现与五脏的失调有密切的关系, 四肢无力多与脾胃有关, 腰酸腿软多与肾脏有关, 气力不足多与肺脏有关, 头脑不清多与心脏有关^[5-6]。人参味甘、微苦, 性微温, 为多年生草本植物, 具有滋阴补肾、扶正固本的作用, 含多种皂苷和多糖类成分, 适用于调整血压、恢复心脏功能、神经衰弱及身体虚脱等症^[7]。灵芝味甘, 性平, 具有补气安神、止咳平喘、滋补强身的功效, 含氨基酸、多肽、蛋白质、三萜类、多糖类等, 常组方用于神经衰弱、利尿益肾、虚劳咳嗽、改善免疫等症状^[7]。该研究旨在探讨人参、灵芝 2 种原料配伍制成胶囊剂缓解体力疲劳的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验样品。人参灵芝胶囊(自制), 由人参、灵芝水提、浓缩、干燥后加辅料制备而成, 0.45 g/粒, 每日食用 4 粒, 相当于人体每日食用人参 2 g、灵芝 2 g。

1.1.2 动物分组。SPF 级昆明小鼠, 雄性, 体重(20±2)g, 由安徽医科大学实验动物中心提供, 动物质量合格证: No.

作者简介 苏婧婧(1985—), 女, 安徽桐城人, 实验师, 硕士, 从事中药药理学研究。* 通信作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事分子药理学研究。

收稿日期 2018-10-15

34000200000691, 许可证号: SCXK(皖)2011-002。试验选用健康小鼠 160 只, 分为 4 个试验组, 各试验组动物再分为 4 组(高、中、低 3 个剂量组及阴性对照组), 每组 10 只。经适应性喂养后进行后续试验。

1.1.3 主要仪器。ML303 电子分析天平、DS-671 电子秤、恒温游泳箱、3K15 冷冻离心机、TU-1901 紫外可见分光光度计、AU400 全自动生化仪、BHW2 恒温水浴锅。

1.1.4 主要试剂。尿素(UREA)测定试剂盒(紫外-谷氨酸脱氢酶法), 购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; 肝糖原测试盒、全血乳酸测试盒, 购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验方法

1.2.1 剂量选择、受试样品给予方式和时间。以人体推荐量的 20 倍换算为小鼠中剂量组, 另设高、低剂量组。受试样品连续灌胃 30 d, 每天 1 次, 每次灌胃体积以 20 mL/kg。高剂量组 0.9 g/kg(人用剂量 30 倍)、中剂量组 0.6 g/kg(人用剂量 20 倍)、低剂量组 0.3 g/kg(人用剂量 10 倍)。每周根据小鼠体重调整灌胃剂量。

1.2.2 负重游泳试验。最后一次灌胃给药 30 min 后, 用手术线和胶布在小鼠尾部固定 5%体重的铅皮, 各给药组随机抽取一只置于水深 40 cm、水温(25±2)℃的恒温游泳箱中游泳, 分别记录各组小鼠自游泳开始至完全没入水中 10 s 的时间。

1.2.3 运动后血清尿素含量测定。最后一次灌胃给药 30 min 后, 将小鼠置于 30℃的恒温游泳箱中, 进行 90 min 不负重游泳, 休息 60 min 后摘眼球采全血约 0.5 mL, 分离血清 2 000 r/min 离心 15 min, 按照试剂盒的操作步骤, 全自动生

化仪测定血清中尿素含量。

1.2.4 肝糖原含量测定。最后一次灌胃给药 30 min 后,小鼠颈椎脱臼处死后,解剖取出肝脏,剪碎后称取肝脏(90~100 mg),按试剂盒的操作步骤,加入碱液沸水浴 20 min,取一定量的检测液加入显色剂,沸水浴 5 min,620 nm 波长,1 cm 光径,比色测定各管吸光度,计算肝糖原含量。

1.2.5 血乳酸含量测定。最后一次给药 30 min 后,从小鼠内眦取血 50 μ L,将小鼠置于 30 $^{\circ}$ C 的恒温游泳箱中,游泳 10 min,游泳结束后休息 0.20 min 后各取血 50 μ L,按照试剂

盒操作说明,530 nm 波长,1 cm 光径,比色测定各管吸光度,计算血乳酸含量及曲线下面积。

1.3 数据统计 数据均以 $\bar{x}\pm S$ 表示,用统计软件 SPSS 16.0 对数据进行单因素方差分析及 2 个独立样本的 t 检验, $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 人参灵芝胶囊对小鼠负重游泳时间的影响 由表 1 可见,与阴性对照组比较,人参灵芝胶囊高、中剂量组小鼠的负重游泳时间明显延长($P<0.01$),并呈一定的剂量依赖性。

表 1 人参灵芝胶囊对小鼠负重游泳时间、运动后血清尿素含量和肝糖原含量的影响

Table 1 Effect of ginseng ganoderma lucidum capsule on load swimming time of mice,serum urea content after exercise and live glycogen content

组别 Group	剂量 Dose g/kg	动物数 Numbers of animal//只	负重游泳时间 Load swimming time//s	血清尿素 Serum urea mmol/L	肝糖原 Hepatic glycogen mg/g
阴性对照组 Negative control group	0	10	381.7 $\pm$ 76.2	10.4 $\pm$ 1.8	8.7 $\pm$ 2.1
低剂量组 Low dose group	0.3	10	450.2 $\pm$ 94.4	9.5 $\pm$ 1.3*	15.7 $\pm$ 1.2**
中剂量组 Medium dose group	0.6	10	580.1 $\pm$ 97.6**	8.3 $\pm$ 0.7**	17.5 $\pm$ 1.8**
高剂量组 High dose group	0.9	10	730.3 $\pm$ 110.9**	9.2 $\pm$ 1.1*	15.6 $\pm$ 2.0**

注:与阴性对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$
Note:Compared with the negative control group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

2.2 人参灵芝胶囊对小鼠运动后血清尿素含量的影响 由表 1 可见,与阴性对照组比较,人参灵芝胶囊各剂量组均可降低小鼠游泳后的血清尿素含量($P<0.05$),以中剂量组作用最为明显。表明人参灵芝胶囊可减少或抑制疲劳小鼠血清尿素的产生。

2.3 人参灵芝胶囊对小鼠肝糖原含量的影响 由表 1 可见,与阴性对照组比较,人参灵芝胶囊高、中、低各剂量组小鼠的肝糖原含量显著升高($P<0.01$)。表明人参灵芝胶囊具

有促进小鼠肝糖原储备的作用。

2.4 人参灵芝胶囊对小鼠血乳酸曲线下面积的影响 由表 2 可见,与阴性对照组比较,人参灵芝胶囊各剂量组小鼠游泳前血乳酸值、游泳后 0 min 血乳酸值均无显著性影响($P>0.05$);中剂量组可明显降低小鼠游泳后 20 min 血乳酸值($P<0.05$);中剂量组小鼠血乳酸曲线下面积显著降低($P<0.01$)。表明人参灵芝胶囊具有减少小鼠运动后乳酸生成的作用。

表 2 人参灵芝胶囊对小鼠血乳酸值及曲线下面积的影响

Table 2 Effect of ginseng ganoderma capsules on blood lactate value and area under curve

组别 Group	剂量 Dose g/kg	动物数 Numbers of animal//只	血乳酸值 Blood lactate//mmol/L			血乳酸曲线下面积 Area under the blood lactate curve
			游泳前 Before swimming	游泳后 0 min 0 min after swimming	游泳后 20 min 20 minutes after swimming	
阴性对照组 Negative control group	0.0	10	3.72 $\pm$ 0.84	4.97 $\pm$ 1.68	4.87 $\pm$ 1.27	141.15 $\pm$ 17.87
低剂量组 Low dose group	0.3	10	3.03 $\pm$ 0.67	5.38 $\pm$ 1.38	4.18 $\pm$ 1.16	137.65 $\pm$ 24.97
中剂量组 Medium dose group	0.6	10	3.05 $\pm$ 1.41	3.79 $\pm$ 0.63	3.53 $\pm$ 0.85*	107.39 $\pm$ 18.63**
高剂量组 High dose group	0.9	10	3.55 $\pm$ 1.87	4.54 $\pm$ 1.89	4.05 $\pm$ 1.52	126.16 $\pm$ 31.98

注:与阴性对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$
Note:Compared with the negative control group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3 结论与讨论

体力疲劳又称运动性疲劳,是由于机体进行重体力劳动、大运动量活动,由于时间过长,肌肉过度紧张,生物能源消耗过多。疲劳直接的表现主要是运动耐力下降,力竭游泳时间是反映运动耐力的重要指标^[8]。负重游泳试验结果表明,与阴性对照组比较,人参灵芝胶囊高剂量组小鼠负重游泳时间显著延长($P<0.01$),人参灵芝胶囊能够提高小鼠的运动耐力,提高机体抗疲劳的功能,延长运动时间。

尿素是哺乳动物蛋白质分解代谢的终产物,随着运动的进行,氨基酸分解代谢增强,血清尿素含量反映的是机体对运动后代谢产物的分解能力,人参灵芝胶囊高、中、低 3 个剂

量组均能降低运动后小鼠血清尿素的含量($P<0.05$),表明人参灵芝胶囊能够加速机体代谢产物的清除,加速疲劳的消解。在长时间游泳后,蛋白质和含氮化学物的分解代谢,体内尿素含量增加,机体对运动负荷能力降低。

在剧烈运动消耗大量血糖时,肌糖原分解供能,为维持血糖水平,机体启用肝糖原,肝糖原的储备量是反映抗疲劳程度的敏感指标^[9]。试验结果表明,人参灵芝胶囊高剂量组能显著提高小鼠肝糖原含量($P<0.01$),为机体提供较好的能量储备,延缓疲劳的产生,增强运动能力。

人参是传统的珍贵滋补中药,灵芝更具“仙草”的美誉,
(下转第 198 页)

能够耐受不同液相色谱仪、色谱柱、柱温等因素的小范围变化,测定龙胆酊中龙胆苦苷的含量无显著差异,说明耐用性良好。

2.6 稳定性试验 按照“1.3.10”方法操作,计算得出龙胆苦苷峰面积分别为 472.46、471.60、472.67、473.40、478.53、472.11,RSD 为 0.54%,表明溶液在 24 h 内稳定。

2.7 样品测定 按照“1.3.11”方法操作,结果发现 20130601-1、20130601-2、20130601-3、20131201、20131202、20131203 不同批号的龙胆酊样品和自制样品中龙胆苦苷的含量分别为 2.090、2.036、2.040、1.525、1.527、1.529、2.197 mg,平均含量为 1.849 mg。

2.8 样品含量限度 根据“2.7”项下 7 批样品中龙胆苦苷的含量实测值,计算出 7 批样品的龙胆苦苷含量平均值为 1.849 mg,按其平均含量的 80%为龙胆酊中龙胆苦苷含量测定的含量限度,确定含量限度为每 1 mL 龙胆酊中含龙胆以龙胆苦苷($C_{16}H_{20}O_9$)计不得低于 1.48 mg。

3 结论与讨论

3.1 含量测定成分的选择 龙胆酊是龙胆经加工制成的酊剂,所以龙胆为其主药,《中国兽药典》2015 年版中龙胆及其制剂龙胆泻肝散质量控制的目标成分均为龙胆苦苷,而龙胆苦苷也是龙胆的主要活性成分之一,因此龙胆酊中含量测定的成分选择为龙胆苦苷。

3.2 样品前处理方法的选择 龙胆酊是龙胆最粗粉,用 40%乙醇作溶剂,浸渍 24 h 后,按照渗漉法制得,因此样品前处理方法相比提取龙胆原药材要方便、简单,参考《中国兽药典》2015 年版二部龙胆泻肝散含量测定项下前处理方法进行样品处理,结果表明该方法能够较完全地提取出龙胆酊中的龙胆苦苷。

3.3 色谱条件的优化 高效液相色谱法的流动相常以水相和有机相混合使用,该研究在参考相关文献和《中国兽药典》2015 年版二部中龙胆泻肝散含量测定的基础上,分别考察了

甲醇-0.2%磷酸、乙腈-0.2%磷酸、甲醇-0.1%冰醋酸等不同流动相下龙胆苦苷的分离情况,结果表明,甲醇-0.2%磷酸和乙腈-0.2%磷酸作为流动相时分离效果好,无显著差异,但是考虑到乙腈毒性大和使用成本高,故选择甲醇-0.2%磷酸作为流动相;通过改变甲醇和 0.2%磷酸比例,确定最佳洗脱条件,即甲醇-0.2%磷酸溶液(20:80,V/V)等度洗脱,该条件下色谱峰峰型好,保留时间稳定,能消除杂质峰的干扰,分离度达到要求。

采用高效液相色谱法测定龙胆酊中龙胆苦苷的含量,该方法简单、快速、准确度高、重复性好,为完善中药龙胆酊的质量标准提供了方法和依据,可以弥补《中国兽药典》2015 年版二部中没有收载龙胆酊主要活性成分龙胆苦苷的含量测定方法,含量限度为每 1 mL 龙胆酊中含龙胆以龙胆苦苷($C_{16}H_{20}O_9$)计不得少于 1.48 mg。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 褚博文,张霁,李智敏,等. 滇龙胆化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(13):213-222.
- [3] 陈雷,王海波,孙晓丽,等. 龙胆苦苷镇痛抗炎药理作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2008,20(5):903-906.
- [4] 宁愿,程玉鹏,马爱萍,等. 龙胆药理作用的研究进展[J]. 化学工程师,2017(6):47-49.
- [5] 程玉鹏,马爱萍,陈琦,等. 微波法提取龙胆中龙胆苦苷工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(3):38-40.
- [6] 南京中医药大学. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:869-871.
- [7] 陈庆文,郝自新. HPLC 同时测定龙胆泻肝丸(浓缩丸)中龙胆苦苷、栀子苷和黄芩苷的含量[J]. 北方药学,2018,15(3):1-3.
- [8] 关皎,朱鹤云,尹树铸,等. HPLC 法同时测定龙胆泻肝丸中 8 个活性成分的含量[J]. 药物分析杂志,2017,37(12):2253-2259.
- [9] 李馨,王金宏,金迪,等. HPLC 法测定龙胆中龙胆苦苷的含量[J]. 黑龙江医药,2010,23(3):319-320.
- [10] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典:二部[S]. 北京:中国农业出版社,2016.
- [11] 吴宗芬,余萍. 中药龙胆酊中龙胆苦苷的薄层鉴别[J]. 中国兽药杂志,2009,43(12):29-30.
- [2] 袁焰,刘国庆. 运动性疲劳的机制与消除手段的综述[J]. 冰雪运动,2004(5):39-42.
- [3] 王红燕,何祖新,刘鑫. 疲劳产生的机制及抗疲劳中药的研究进展[J]. 现代中医药,2007,27(2):58-59.
- [4] 王丹. 运动导致活性氧增加的 NADPH 氧化酶途径研究[D]. 长沙:湖南大学,2011.
- [5] 李木钗,王松,钱宁. 运动性疲劳的中医病因病机探析[J]. 中医研究,2008,21(12):6-10.
- [6] 张子彦,赵爱泉. 中医药对运动性疲劳恢复作用[J]. 浙江中医药大学学报,2008,32(5):685-686.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:8-9,188-189.
- [8] 李冰,王静风,傅佳,等. 刺参对运动小鼠抗疲劳作用的研究[J]. 食品科学,2010,31(15):244-247.
- [9] 吴越,曲敏,佟长青,等. 羊栖菜多糖对小鼠抗疲劳作用的研究[J]. 食品工业科技,2013,34(8):350-352.
- [10] 张祥,张晶莹,宋昕恬,等. 人参皂苷的抗疲劳作用研究[J]. 安徽农业科学,2018,46(5):12-14.

(上接第 177 页)

具有很高的药用价值。该研究从现代药理研究角度阐释人参灵芝抗疲劳的作用。人参发挥抗疲劳作用的主要活性物质是人参皂苷^[10]、人参多糖和人参蛋白。灵芝活性成分复杂,灵芝多糖是其发挥抗疲劳作用的主要活性物质。由于人参和灵芝几乎无毒副作用,且临床效果显著,已开发成多种保健食品。

综上所述,人参灵芝胶囊能明显延长小鼠负重游泳时间,降低运动后血清中尿素和乳酸含量,增加肝糖原的储备,具有缓解体力疲劳的作用。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2003:389-409.