

生晒参-甘草-桂花提取物对Balb/C小鼠运动疲劳抗性的影响

汪洪, 方昊, 冯伟, 张蕾

Anti-fatigue Effect on Balb/C Mice by Ginseng Glycyrrhiza Root and Osmanthus Flower Extract

WANG Hong, FANG Hao, FENG Wei, and ZHANG Lei

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020020240>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

红参红景天混合物提取工艺及其抗疲劳作用

Extraction Process of Red Ginseng and *Rhodiola crenulata* Mixture and Its Anti-fatigue Effect

食品工业科技. 2019, 40(16): 181-185,191 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.16.030>

安五脂素对衰老小鼠抗疲劳作用研究

Anti-fatigue Effect of Anwulignan on Aging Mice

食品工业科技. 2020, 41(18): 319-323 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.18.050>

菊苣多糖体外抗氧化能力及抗疲劳作用

In vitro antioxidant activity and anti-fatigue effect of chicory polysaccharide

食品工业科技. 2018, 39(9): 1-5,10 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.09.001>

圆鲚暗色肉蛋白酶解物的抗疲劳作用

Anti-fatigue effect of enzymatic hydrolysates from *Auxis tapeinosom* dark muscle protein

食品工业科技. 2018, 39(10): 315-319,323 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.10.058>

黑枸杞水提取物对小鼠疲劳及运动性心肌损伤的改善作用

Anti-fatigue and Improvement Effect of Exhausting Exercise-induced Myocardial Damage of Aqueous Extract from *Lycium Ruthenicum* Murr.in Mice

食品工业科技. 2018, 39(16): 296-299,312 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.16.053>

金丝桃苷对小鼠的抗疲劳作用及机制研究

Study on the Effects and Mechanism of Hyperoside on Anti-Fatigue in Mice

食品工业科技. 2021, 42(23): 350-355 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010227>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

汪洪,方昊,冯纬,等.生晒参-甘草-桂花提取物对 Balb/C 小鼠运动疲劳抗性的影响[J].食品工业科技,2023,44(5):356-362. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020020240

WANG Hong, FANG Hao, FENG Wei, et al. Anti-fatigue Effect on Balb/C Mice by Ginseng Glycyrrhiza Root and Osmanthus Flower Extract[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(5): 356-362. (in Chinese with English abstract). doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020020240

· 营养与保健 ·

生晒参-甘草-桂花提取物对 Balb/C 小鼠运动疲劳抗性的影响

汪洪¹,方昊²,冯纬¹,张蕾^{2*}

(1.浙江五味和食品有限公司,浙江杭州 310023;

2.浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江杭州 310018)

摘要:通过动物实验研究生晒参-甘草-桂花混合提取物对 Balb/C 小鼠的抗疲劳作用,并初步探讨其抗疲劳机制。本实验将 160 只 Balb/C 小鼠随机分为 4 组:空白组和提取物低、中、高(30、150、300) mg·L⁻¹ 剂量组。生晒参-甘草-桂花混合后经热水回流工艺提取、过滤和浓缩后,按比例配制为灌胃材料。4 组实验小鼠经过环境适应后开始灌胃实验,每日一次,每次 2 mL,为期 28 d,每周记录各组小鼠体重,并在最后一次灌胃结束后,采用负重游泳实验、常压耐缺氧实验和生化法检测小鼠的肝糖原含量、血尿素氮、血乳酸含量变化及 T-SOD 活力和 MDA 含量等指标。结果表明,给药组小鼠游泳前后血乳酸比空白组下降明显;血尿素氮含量增幅与空白组比较明显降低,部分剂量组别具有显著性差异;给药组小鼠血清 T-SOD 活力(218.71±8.14、217.21±7.82、204.33±7.78 U·mL⁻¹)和肝糖原水平(11.75±1.02、12.03±1.21、11.84±0.67 mg/g)显著高于空白组(121.18±17.58 U·mL⁻¹、7.91±0.89 mg/g);给药组小鼠血清 MDA 含量(11.24±1.18、13.62±0.65、15.25±0.91 nmol·mL⁻¹)显著低于空白组(21.18±1.62 nmol·mL⁻¹);给药后可显著延长小鼠负重游泳时间和常压缺氧条件下小鼠存活时间。综上所述生晒参甘草桂花提取物具有明显的抗疲劳作用,其作用机理可能与富含皂苷、黄酮和多糖,调节小鼠肝糖原含量、提高小鼠体内清除氧自由基水平有关。

关键词:生晒参甘草桂花提取物, Balb/C 小鼠, 抗疲劳作用, 负重游泳实验

中图分类号:TS262

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2023)05-0356-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020020240



本文网刊:

Anti-fatigue Effect on Balb/C Mice by Ginseng Glycyrrhiza Root and Osmanthus Flower Extract

WANG Hong¹, FANG Hao², FENG Wei¹, ZHANG Lei^{2*}

(1.Zhejiang Wuweihe Food Co., Ltd., Hangzhou 310023, China;

2.College of Food and Biological Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: In order to study the anti-fatigue effect of the active ingredients of the ginseng, glycyrrhiza root and osmanthus flower extract on mice, and discuss its anti-fatigue mechanism. The Balb/C mice were randomly divided into 4 groups according to their body weight: Control group and three dose groups (30, 150, 300 mg/L⁻¹). The ginseng glycyrrhiza root and osmanthus flower extract was extracted, filtered and concentrated by hot water reflux process, and then formulated as gavage material in proportion. Gavage saline and low, medium and high doses of extract (once a day) 2 mL each time into the stomach of Balb/C mice that have adapted to the environment. A 28-day gavage trial was performed to record changes in body weight of each group of mice per week. After the last gavage, the hepatic glycogen content, blood urea nitrogen, blood lactate content and T-SOD activity and MDA content were measured by weight-bearing swimming test, normal pressure hypoxia test and biochemical method. The results showed that the serum lactate decreased more significantly after

收稿日期: 2020-02-25

作者简介: 汪洪(1970-),女,大专,高级技师,研究方向:食品工程,E-mail: 820536244@qq.com。

* 通信作者: 张蕾(1980-),女,博士,讲师,研究方向:生物活性成分,E-mail: zhanglei@zjgsu.edu.cn。

swimming in the administered group of mice than the blank group data, and the increase level of serum urea nitrogen decreased significantly compared with the blank group, and some dose groups with significant differences. The serum T-SOD levels (218.71 ± 8.14 , 217.21 ± 7.82 , $204.33 \pm 7.78 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$) and liver glycogen levels (11.75 ± 1.02 , 12.03 ± 1.21 , $11.84 \pm 0.67 \text{ mg/g}$) were significantly higher than those in the blank group ($121.18 \pm 17.58 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$, $7.91 \pm 0.89 \text{ mg/g}$). And the serum MDA levels of mice in the administered group (11.24 ± 1.18 , 13.62 ± 0.65 , $15.25 \pm 0.91 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$) were significantly lower than those in the blank group ($21.18 \pm 1.62 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$). The administration of the drug significantly prolonged the survival time of mice under weight-bearing swimming and atmospheric pressure anoxic condition. In conclusion, it shows that ginseng glycyrrhiza root and osmanthus flower extract has significant anti-fatigue effect. The mechanism of action may be related to the rich content of saponins, flavonoids and polysaccharides, which can regulate the liver glycogen content and improve the level of oxygen free radical scavenging in mice.

Key words: ginseng glycyrrhiza root and osmanthus flower extract; Balb/C mice; anti-fatigue effect; weight-bearing swimming test

生晒参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根, 允许用于食品, 推荐生药剂量为 3~9 g/d。据《中国药典》记载, 生晒参性味甘、微苦, 平, 具有安神生津, 补脾益肺的功效。现代药理研究表明, 人参含有人参皂苷、糖类、黄酮类以及多种维生素等营养物质, 其中主要有效成分是人参多糖和人参皂苷, 具有滋补强身健体, 降低疲劳的疗效^[1-3]。佟彤等^[4]研究表明在免疫抑制模型中人参多糖处理能逆转环磷酸胺造成的 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比例减小, 以及 CD69⁺细胞占 CD3⁺ T 细胞的比例升高。SUN 等^[5]研究表明, 人参多糖通过增加全血 NK 细胞数量、穿孔素和颗粒酶表达来促进免疫抑制小鼠的 NK 细胞的细胞毒性, 在治疗癌症和免疫缺陷病方面有着广泛的应用前景。HOU 等^[6]研究表明, 人参皂苷对于延缓疲劳产生具有重要意义, 主要机理是它能增加小鼠肝运动时糖原的储备量, 对小鼠肌糖原的合成具有显著的增强作用。

甘草一般指豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根或根茎, 允许用于食品, 推荐生药剂量为 2~10 g/d。据《中国药典》^[7] 记载, 甘草性味甘、平, 有调和诸药、补脾益气, 祛痰止咳等功效。三萜皂苷和黄酮类化合物被认为是甘草中的主要活性成分。吴航^[8] 通过小鼠实验证明了甘草黄酮具有明显的抗肝纤维化药理作用。有研究表明, 甘草具有抗炎、抗病毒、抗氧化等^[9] 功能, 可以作为自身免疫疾病和炎症治疗的潜在药物^[10]。还有研究表明, 异甘草素、柚皮素这两种甘草中的活性物质能增强 T 细胞的免疫作用^[11]。

桂花 (*Osmanthus fragrans* Lour.) 属木犀科 (Oleaceae) 木犀属 (*Osmanthus*), 是我国一种传统食品, 又是我国传统名花之一, 具有极高的观赏和食用价值^[12]。桂花性辛温, 能化痰生津, 有暖胃、平肝、益肾、散寒之功效。中医认为桂花温而不燥, 可醒脾开胃, 疏肝理气。桂花中的黄酮类及酚类物质含量相对较高, 有研究表明, 桂花提取物具有抑菌、抗氧化和神经保护等^[13-16] 作用, 主要靠的正是桂花中的黄酮及酚类物质。LEE 等^[17-19] 通过实验佐证, 桂花中所含的木脂素类化合物能起到抗炎作用。WANG 等^[20-21] 通过研

究发现桂花的提取物具有抑菌作用, 且有助于改善因衰老引起的空间学习能力和记忆能力减弱状况。

综合前人研究, 生晒参、甘草和桂花单方均具有一定抗疲劳能力^[22-24], 但目前尚未有对生晒参、甘草和桂花三种可食用材料混合提取, 是否有抗疲劳能力的相关报道。生晒参具有独特的口感和香味, 甘草可以调节食物口感, 桂花有非常好的增香效果, 在不超出安全剂量的前提下, 混合提取后添加入食品, 可以丰富口感与香味。本实验以 Balb/C 小鼠为模型, 拟研究生晒参甘草桂花混合提取物对小鼠耐缺氧及抗运动疲劳能力的影响, 旨在为后期利用该提取物制备具有抗疲劳功能的保健食品提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

健康的清洁级 Balb/C 小鼠 体重(20±2)g, 雄性, 购于浙江医学科学院动物中心; 生晒参(批号 180127T)、甘草(批号 214171201)、桂花(批号 1712187T) 均购于杭州东仁堂医药零售连锁有限公司; 肝糖原试剂盒、超氧化歧化酶试剂盒、丙二醛试剂盒、乳酸试剂盒和尿素氮试剂盒 均购自南京建成生物工程研究所; 钠石灰 购于阿拉丁试剂有限公司。

XFB-200 型粉碎机 广州鸿兴机械有限公司; RV8V-C 型低温真空旋转蒸发仪 深圳市三利化学制品有限公司; Anke LXJ-II B 型低速离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 原料的处理及灌胃材料的制备 高剂量组为生晒参 7.7 g(38.5%)、甘草 9 g(45%)、桂花 3.3 g(16.5%), 剂量比例由本实验室前期的配方筛选实验得出; 中剂量组为生晒参 3.85 g、甘草 4.5 g、桂花 1.65 g; 低剂量组为生晒参 0.77 g、甘草 0.9 g、桂花 0.33 g。将买来的药材烘干(50 ℃)至恒重(烘干后水分含量约为 4%), 再利用小型研磨机粉碎至大小均匀、直径 1 cm 左右颗粒。按各剂量, 对样品颗粒称重。将各剂量组样品以 1:20 的料液比浸泡在 65% 的乙醇溶液中, 室温过夜后, 在 70 ℃ 的水温条件下

回流提取 4 h, 再对混料提取液进行过滤, 旋转蒸发仪浓缩提取液, 压强控制在 100 Pa, 温度 60 °C 左右 (旋转蒸发仪无成串水珠流下即可判定浓缩结束)。最后将浓缩液与生理盐水混合, 制得总体积为 70 mL 左右的 Balb/C 小鼠灌胃材料。每千克小鼠灌胃 100 mL/d。

1.2.2 实验动物的分组和处理 将体重(20±2)g 的 160 只雄性 Balb/C 小鼠随机分为 4 组, 每组 40 只。具体的实验分组为: 空白组: 生理盐水 2 mL/d; 提取物低剂量组: 生药量 0.03 mg/mL, 2 mL/d; 提取物中剂量组: 生药量 0.15 mg/mL, 2 mL/d; 提取物高剂量组: 生药量 0.30 mg/mL; 2 mL/d。

所购的 Balb/C 小鼠饲养在(22±2)°C 的洁净环境当中。Balb/C 小鼠经 10 d 的适应性饲养后, 于每天上午 10 点 30 分左右由专职人员对其进行灌胃操作, 每日 1 次, 连续给予 Balb/C 小鼠受试物 4 周时间, 并且在实验期间小鼠自由摄取水和食物^[25]。每隔一周用电子天平对 Balb/C 小鼠体重进行称量, 并记录 Balb/C 小鼠体重的数据。4 周后, 进行小鼠负重游泳、常压耐缺氧等试验, 测量小鼠的负重游泳时间及肝糖原、血清乳酸等指标。

1.2.3 生晒参甘草桂花提取物活性成分的检测 本实验采用苯酚-硫酸法测定各剂量组总多糖的含量^[16]; 采用香草醛-硫酸法测定各剂量组总皂苷的含量^[18]; 采用分光光度法测定各剂量组总黄酮的含量^[20]。

1.2.4 检测指标

1.2.4.1 小鼠的负重游泳时间 Balb/C 小鼠 40 只, 雄性, 由 4 个实验组中随机挑选 10 只组成。在最后一次对小鼠灌胃 30 min 后, 在水温为 25 °C 的水箱中进行力竭游泳实验。水深不少于 30 cm, 水温(25±1)°C, 鼠尾根部负荷 5% 体重的铅皮^[25]。以小鼠头部入水持续 8 s 未能浮出水面为力竭依据, 记录 Balb/C 小鼠的游泳力竭时间^[26]。

1.2.4.2 小鼠的常压耐缺氧实验 Balb/C 小鼠 40 只, 雄性, 由 4 个实验组中, 分别随机挑选 10 只组成。最后 1 次给药后, 分别将进行该实验的 Balb/C 小鼠放入盛有 10 g 钠石灰的容量为 250 mL 磨口瓶内, 封住瓶口, 以呼吸停止为死亡指标, 观察其存活时间。

1.2.4.3 小鼠血乳酸和血尿素氮的测定 Balb/C 小鼠 40 只, 雄性, 由 4 个实验组中, 随机各挑选 10 只组成。末次给药 30 min 后, 用毛细玻璃管眼眶采血 20 μL, 休息 30 min; 然后让小鼠在水温(25±1)°C 水中不负重游泳 50 min, 将小鼠取出, 再安静 20 min, 用镊子拨眼球取血 20 μL。将游泳前后两次取出的新鲜血样加入抗凝剂混匀, 放入 4 °C 冰箱, 用保鲜膜覆盖, 避免剧烈晃动, 过夜取血清, 然后按照试剂盒说明书的说明测定小鼠游泳前后血乳酸和血尿素氮含量^[27]。

1.2.4.4 小鼠肝糖原、血清和肝组织中 T-SOD、MDA

的测定 Balb/C 小鼠 40 只, 雄性, 由 4 个实验组中, 分别随机挑选组成。末次对小鼠给药后, 安静 30 min, 再拔除眼球取血 20 μL, 离心分离血清后, 检测血清中 T-SOD、MDA 含量; 处死小鼠取出肝脏, 制备肝组织匀浆, 按所购试剂盒说明书测定肝脏 T-SOD、MDA 及肝糖原含量。

1.3 数据处理

实验数据均以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 应用 SPSS 16.0 统计软件进行单因素方差分析, 比较组间差异性。并用 Origin 软件绘制图形。

2 结果与分析

2.1 各剂量组中活性成分含量的测定

由 1.2.3 中方法测得空白组、样品低剂量组、中剂量组、高剂量组中总皂苷含量分别为 0.00、3.17、13.15 和 28.35 mg/mL。总黄酮含量分别为 0.00、3.20、11.28 和 24.35 mg/mL。总多糖含量分别为 0.00、14.25、48.44 和 83.92 mg/mL。

2.2 提取物对 Balb/C 小鼠血乳酸含量的影响

游泳实验前后, 空白组和各剂量组小鼠的血乳酸含量如图 1 所示, 图 1 表明, 在小鼠游泳前眼眶取血样本中, 各剂量组与空白组相比, 各组受试小鼠的血乳酸含量处于同一水平, 统计学分析无显著性差异($P > 0.05$)。而在 Balb/C 小鼠游泳后眼球取血的样本中可以发现, 各剂量组的血乳酸水平较 Balb/C 小鼠游泳前的血乳酸水平均有所下降, 低剂量组与空白组无显著性差异($P > 0.05$); 中剂量组与空白组无显著性差异($P > 0.05$), 但是确有降幅; 而高剂量组的血清乳酸含量与空白组比较显著降低($P < 0.05$)。这表明在增加剂量的同时, 是能够促进小鼠运动后血乳酸含量的降低, 且中剂量到高剂量呈现愈发明显的趋势。纵向比较同一组别小鼠游泳前后可以发现, 中剂量组和高剂量组的血乳酸含量降幅显著高于空白组($P < 0.05$), 间接说明中剂量和高剂量能加速乳酸的清除。

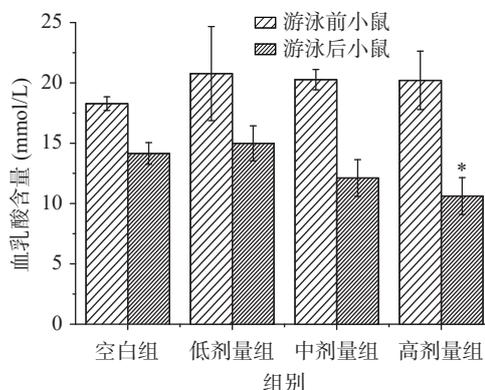


图 1 提取物对小鼠血乳酸含量的影响

Fig.1 Effect of extracts on serum lactic acid content in mice
注: “*”表示与空白组相比差异显著($P < 0.05$); 图 2 同。

实验结果初步表明提取物能显著降低 Balb/C 小鼠运动后的血乳酸含量, 这可能是通过加速乳酸的清除来实现的。这与郝洁等^[28]的实验结果相一致。

2.3 提取物对 Balb/C 小鼠血尿素氮含量的影响

游泳实验前后,空白组和各剂量组小鼠的血尿素氮含量如图 2 所示,图 2 表明,在小鼠游泳前眼眶取血样本中,各组受试小鼠的血尿素氮含量处于同一水平,统计学分析无显著性差异($P>0.05$)。在小鼠游泳后眼球取血的样本中,各剂量组血尿素氮水平较游泳前均有所上升,低剂量和高剂量组与空白组无显著性差异($P>0.05$);中剂量组的血尿素氮含量与空白组比较显著降低($P<0.05$)。剧烈运动的同时,由于氨基酸蛋白质代谢速率加快,导致血液中的尿素含量也会增加,由此可知,中剂量组的小鼠缓解运动疲劳的能力是优于其他三组实验小鼠的。纵向比较同一组别小鼠显示低剂量组和中剂量组的血尿素氮含量增幅显著低于空白组($P<0.05$),且中剂量组更明显,而高剂量的增幅与空白组相近,无显著性差异($P>0.05$)。这说明低剂量和中剂量能够显著减缓血尿素氮增长趋势,至少在低到中的剂量区间内,是能够缓解小鼠运动疲劳的,而在高剂量附近这种缓解疲劳的效果不再明显。这可能由于针对该配方而言,中剂量附近出现缓解小鼠运动最佳剂量,之后提高剂量反而对缓解小鼠运动疲劳起到抑制效果。

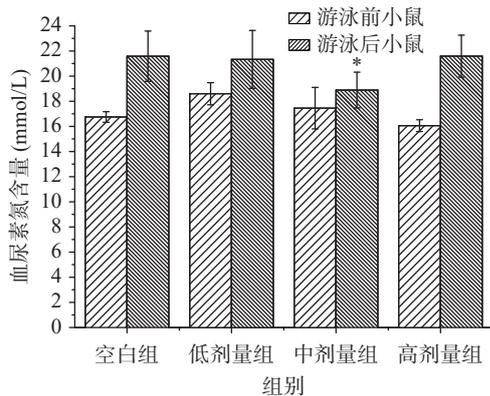


图 2 提取物对小鼠血尿素氮含量的影响

Fig.2 Effect of extracts on serum urea nitrogen content in mice

2.4 提取物对 Balb/C 小鼠 T-SOD 活力和 MDA 含量的影响

SOD 是机体清除氧自由基的重要酶,机体疲劳时,氧自由基会增多;MDA 则是自由基引起的脂质过氧化的主要产物,MDA 含量可以间接反映机体抗氧化能力及清除氧化产物的能力。故 SOD 活力和 MDA 含量也能评价小鼠的抗疲劳能力。

将 Balb/C 小鼠的血清和肝组织匀浆清液用试剂盒进行小鼠的 T-SOD 活力和 MDA 含量的测定,结果如表 1 所示。可以看出,各剂量组均能显著增强 Balb/C 小鼠血清 T-SOD 活力($P<0.01$),与空白组相比有显著性差异。肝组织检测中,各剂量组与空白组不存在明显的差异。与空白组比较,各剂量组小鼠血清 MDA 含量均有显著降低($P<0.01$);但各剂量组的小鼠肝脏组织 MDA 含量均与空白组比较无统计学意义。

表 1 提取物对小鼠 T-SOD 活力和 MDA 含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of extracts on T-SOD activity and MDA content in mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	血清T-SOD活力(U·mL ⁻¹)	血清MDA含量(nmol·mL ⁻¹)	肝组织T-SOD活力(U·mg ⁻¹)	肝组织MDA含量(nmol·mL ⁻¹)
空白组	121.18±17.58	21.18±1.62	312.28±29.35	4.43±0.46
低剂量组	218.71±8.14**	11.24±1.18**	329.59±11.36	2.73±0.40
中剂量组	217.21±7.82**	13.62±0.65**	345.39±31.03	3.84±1.36
高剂量组	204.33±7.78**	15.25±0.91**	358.18±23.40	4.11±1.87

注: “**”表示与空白组相比差异显著($P<0.01$)。

2.5 提取物对 Balb/C 小鼠肝糖原含量的影响

如图 3 所示,各剂量组均可明显升高 Balb/C 小鼠的肝糖原含量,与空白组具有显著性差异($P<0.01$)。说明该提取物能增加小鼠的肝糖原的储备能力,为机体提供足够的能源物质来达到抗疲劳的目的。各剂量组之间肝糖原含量没有较大的差异,这可能是由于低剂量组的剂量就已经达到或者超过能够使小鼠肝糖原含量随着有效成分含量的增长而增长的阈值,使得中剂量和高剂量组的肝糖原含量较低剂量组没有明显增加。

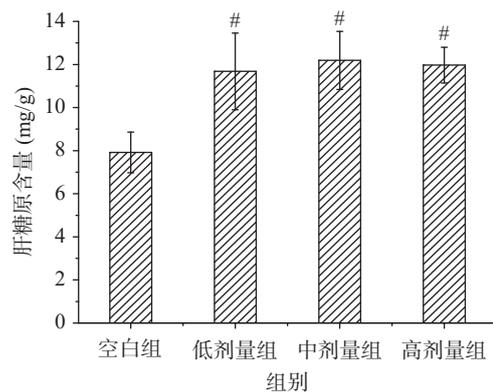


图 3 提取物对小鼠肝糖原含量的影响

Fig.3 Effect of extracts on liver glycogen content in mice

注: “#”表示与空白组相比差异显著($P<0.01$)。

2.6 提取物对 Balb/C 小鼠体重的影响

由表 2 可知,体重增长率与空白组比较无显著性差异,给药组未对小鼠的体重产生明显影响。

表 2 提取物对小鼠体重的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of extracts on body weight of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	喂药实验前体重(g)	喂药实验后体重(g)	实验前后体重增率(%)
空白组	23.07±0.90	25.77±1.28	11.9±2.2
低剂量组	22.85±1.39	25.88±1.51	11.7±0.9
中剂量组	23.18±1.28	26.06±0.95	14.6±2.0
高剂量组	22.84±1.00	25.51±1.4	11.8±2.8

2.7 提取物对 Balb/C 小鼠常压耐缺氧实验的影响

如图 4 所示,低剂量和中剂量组可明显延长小鼠常压耐缺氧的存活时间,与空白组比较有显著性差异($P<0.05$)。高剂量组虽能延长小鼠常压耐缺氧的

存活时间,但与空白组比较没有显著性差异。此处与小鼠游泳前后血尿素氮含量变化结果接近。在低到中的剂量区间内,小鼠的常压耐缺氧时间显著高于空白组($P<0.05$),且中剂量组比低剂量组小鼠的耐缺氧时间更长。这可能于该配方而言,中剂量组附近更能促进小鼠的耐缺氧能力,从而调节小鼠的抗运动疲劳能力,使得小鼠抗运动疲劳。而再提高剂量反而抑制小鼠这种耐缺氧能力,使得小鼠不再抗运动疲劳。

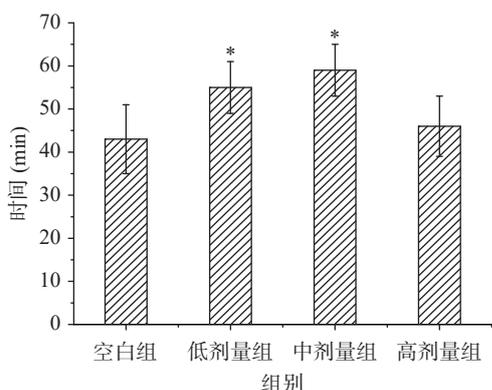


图4 提取物对小鼠常压耐缺氧实验的影响

Fig.4 Effect of extracts on hypoxia-resistance experiment in mice under normal pressure

注:“*”表示与空白组相比差异显著($P<0.05$);图5同。

2.8 提取物对 Balb/C 小鼠负重游泳时间的影响

Balb/C 小鼠的负重游泳时间结果如图5所示,可以看出,低剂量和中剂量组可明显延长小鼠负重游泳时间,且与空白组比较差异有显著性($P<0.05$)。而高剂量组虽然延长了游泳时间,但是与空白组没有显著性差异($P>0.05$)。

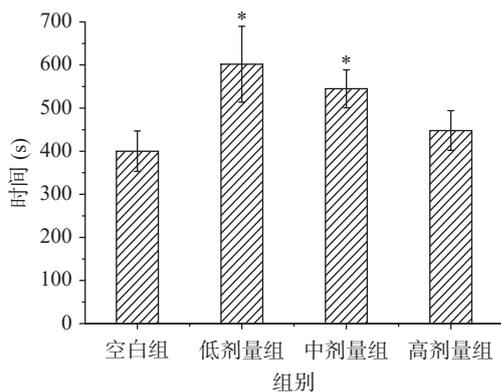


图5 提取物对小鼠负重游泳时间的影响

Fig.5 Effect of extracts on weight-bearing swimming time of mice

3 讨论与结论

根据卫生部《保健食品检验与评价技术规范》(2003年),判定负重游泳实验中,动物受试物具备缓解体力疲劳的标准是:测定的肝糖原、血乳酸、血清尿素氮当中任意2项指标阳性;负重游泳实验结果为阳性^[23]。曾露露等^[29]、黄宝亮等^[30]、周海涛等^[31]均通过小鼠负重游泳实验证明受试物的抗运动疲劳能力。

本文配方黄酒的药食同源配方生晒参,甘草和桂花由前期通过感官实验筛选出,验证其在迎合大众口感的前提下,是否保有人参,甘草等的抗疲劳效果很有必要。

研究表明人参皂苷能够使运动时血清中的血尿素氮和血乳酸含量下降^[32-33],抑制肝糖原合成酶激酶^[22],从而促进肝糖原的合成。研究表明,人参皂苷的干预,能显著刺激运动时机体乳酸脱氢酶活性^[23],降低机体的酸化程度,增强肌肉的运动能力,从而延缓疲劳的产生并加快对疲劳感的消除。楚丽雅等^[24]通过对清洁级的昆明小鼠进行甘草水煎液灌胃并进行小鼠力竭游泳实验,结果表明喂食甘草水煎液组小鼠力竭时间明显高于阴性对照组,血乳酸浓度明显低于阴性对照组,与阳性对照组相似,证明了甘草对小鼠有明显的抗疲劳效果。吕银娟^[34]对甘草和参类配伍的甘草三参汤进行抗心律失常和抗疲劳、耐缺氧作用研究,结果表明,喂食甘草三参汤高剂量和中剂量组与阴性对照组均有显著性差异,且结果靠近阳性对照组,证明了甘草三参汤具有抗心律失常和抗疲劳能力。王海桃等^[35]对人参三七茶的抗疲劳及免疫调节作用进行研究,结果表明,高、中剂量人参三七茶可明显延长小鼠游泳力竭时间,高剂量人参三七茶能降低小鼠血尿素氮的含量并增加其肝糖原的含量,还能够显著提高淋巴细胞的转化和NK细胞的活性,从而证明人参三七茶对小鼠具有抗疲劳、增强免疫的作用。

由前人研究结果可知,人参,甘草具有较好的抗疲劳功效,且人参甘草组方也有过抗疲劳机理相关研究。桂花作为一种我国传统的食品,具有极高的观赏和食用价值。而针对该组方而言,其活性成分主要是总皂苷、总多糖和总黄酮。

本实验结果表明,Balb/C小鼠在长期摄入提取物后,低剂量组和中剂量组负重游泳时间及耐缺氧时间较空白组均有显著延长。各剂量组的肝糖原含量与空白组相比存在显著性差异,均明显高于空白组。在此起作用的活性物质可能是人参皂苷。中剂量组和高剂量组游泳前后较空白组,能降低小鼠的血乳酸水平,低剂量组和中剂量组游泳前后较空白组能降低血尿素氮水平。这可能是人参皂苷和甘草黄酮、桂花黄酮起作用。各剂量组的血清T-SOD活力较空白组有显著提高,血清MDA含量较空白组均下降明显。

综上所述生晒参-甘草-花提取物对Balb/C小鼠具有显著的抗疲劳作用。其作用可能与人参皂苷抑制肝糖原合成酶激酶,促进肝糖原合成;及人参皂苷,人参多糖,甘草黄酮和桂花黄酮等活性成分刺激运动时机体乳酸脱氢酶活性,降低机体的酸化程度,增强肌肉的运动能力以达到抗机体运动疲劳相关。

参考文献

[1] 张彩,史磊.人参化学成分和药理作用研究进展[J].食品与药品,2016,18(4):300-304. [ZHANG C, SHI L. Progress on che-

- mical constituents and pharmaceutical effects of ginseng[J]. *Food and Drug*, 2016, 18(4): 300–304.]
- [2] 罗林明, 石雅宁, 姜懿纳, 等. 人参抗肿瘤作用的有效成分及其机制研究进展[J]. *中草药*, 2017, 48(3): 582–596. [LUO L M, SHI Y N, JIANG Y N, et al. Advances in the study of active ingredients and their mechanisms of anti-tumor effects of ginseng[J]. *Chinese Herbal Medicine*, 2017, 48(3): 582–596.]
- [3] 黎阳, 铁军张, 刘素香, 等. 人参化学成分和药理研究进展[J]. *中草药*, 2009, 40(1): 164–166. [LI Y, TEI J Z, LIU S X, et al. Advances in chemical composition and pharmacological research of ginseng[J]. *Chinese Herbal Medicine*, 2009, 40(1): 164–166.]
- [4] 佟彤, 董文茜, 梁晓雨, 等. 人参多糖免疫调节作用的实验研究[J]. *北京中医药*, 2016, 35(1): 41–45. [TONG T, DONG W X, LIANG X Y, et al. Experimental study on the immunomodulatory effects of ginseng polysaccharides[J]. *Beijing Traditional Chinese Medicine*, 2016, 35(1): 41–45.]
- [5] SUN Y, GUO M, FENG Y, et al. Effect of ginseng polysaccharides on NK cell cytotoxicity in immunosuppressed mice[J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2016, 12(6): 3773–3777.
- [6] HOU C W, LEE D A, KAO C L, et al. Improved inflammatory balance of human skeletal muscle during exercise after supplementations of the ginseng-based steroid Rg1[J]. *Plos One*, 2015: 31–33.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典 (一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 101–103. [National Pharmacopoeia Committee. *Chinese pharmacopoeia (Part I)*[M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2010: 101–103]
- [8] 吴航. 甘草黄酮抗小鼠肝纤维化药理作用的研究[J]. *菏泽医学专科学校学报*, 2016, 28(1): 11–13. [WU H. Study on the pharmacological effects of licorice flavonoids against liver fibrosis in mice[J]. *Journal of Heze Medical College*, 2016, 28(1): 11–13.]
- [9] 高雪丽. 甘草功能特性研究进展[J]. *粮食与油脂*, 2015, 246(10): 1–4. [GAO X L. Progress of research on functional properties of licorice[J]. *Grain and Oil*, 2015, 246(10): 1–4.]
- [10] NIU T, YANG J, ZHANG L, et al. Research advances on anticancer effect of licorice[J]. *Current Bioactive Compounds*, 2009, 5(3): 234–242.
- [11] GUO A, HE D, XU H, et al. Promotion of regulatory T cell induction by immunomodulatory herbal medicine Licorice and its two constituents[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 14046.
- [12] 杨康民, 朱文江. 桂花[M]. 上海: 上海科技出版社, 2000. [YANG K M, ZHU W J. *Osmanthus*[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2000.]
- [13] ARCTANDER S. Perfume and flavor materials of natural origin[J]. *Orchard Innovations*, 1960.
- [14] TSAI T H, TSAI T H, CHIEN Y C, et al. *In vitro* antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs[J]. *Food Chemistry*, 2008, 110(4): 859–864.
- [15] 陶阿丽, 戴一, 华芳. 桂花中总黄酮提取工艺及采收期研究[J]. *食品与发酵工业*, 2013(2): 247–249. [TAO A L, DAI Y, HUA F. Study on the extraction process and harvesting period of total flavonoids in *Osmanthus fragrans*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2013(2): 247–249.]
- [16] HUNG C Y, TSAI Y C, LI K Y. Phenolic antioxidants isolated from the flowers of *Osmanthus fragrans*[J]. *Molecules*, 2012, 17(9): 10724.
- [17] LEE D G, LEE S M, BANG M H, et al. Lignans from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* and their inhibition effect on NO production[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2011, 34(12): 2029–2035.
- [18] LIU J, NAKAMURA S, XU B, et al. Chemical structures of constituents from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2015, 69(1): 135–141.
- [19] HUNG C Y, HUANG F L, SHI L S, et al. The ethanol extract of *Osmanthus fragrans* flowers reduces oxidative stress and allergic airway inflammation in an animal model[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 2013: 1–10.
- [20] WANG L M, YU L J, CHU M J, et al. Flavonoids from *Osmanthus fragrans*: Extraction and bacteriostatic activities[J]. *Natural Product Research & Development*, 2008, 20(4): 717–720.
- [21] XIONG L, MAO S, LU B, et al. *Osmanthus fragrans* flower extract and acteoside protect against d-galactose-induced aging in an icr mouse model[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2016, 19(1): 54–61.
- [22] 张林海. 人参乙醇提取物的降糖作用及对大鼠肝脏糖原合成酶激酶-3 β 的影响[D]. 延吉: 延边大学, 2012. [ZHANG L H. Hypoglycemic effect of ethanolic extract of ginseng and its effect on hepatic glycogen synthase kinase-3 β in rats[D]. Yanji: Yanbian University, 2012.]
- [23] OH H A, KIM D E, CHOI H J, et al. Anti-stress effects of 20(S)-protopanaxadiol and 20(S)-protopanaxatriol in immobilized mice[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2015, 38(2): 331–335.
- [24] 楚丽雅, 田维忠, 邵红英, 等. 甘草的抗疲劳作用研究[J]. *内蒙古中医药*, 2012, 31(9): 127–127. [CHU L Y, TIAN W Z, SHAO H Y, et al. Study on the anti-fatigue effect of licorice[J]. *Inner Mongolia Traditional Chinese Medicine*, 2012, 31(9): 127–127.]
- [25] 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: 中国标准出版社, 2003: 8–93. [Ministry of Health of the People's Republic of China. *Health food inspection and evaluation technical specifications*[S]. Beijing: Standards Press of China, 2003: 87–93.]
- [26] 蔡亚伟, 王海燕, 孟辰, 等. 牡蛎肉提取物对小鼠抗疲劳和耐缺氧能力的影响[J]. *山东中医药大学学报*, 2019(5): 503–507. [CAI Y W, WANG H Y, MENG C, et al. Effects of oyster meat extract on anti-fatigue and hypoxia tolerance in mice[J]. *Journal of Shandong University of Traditional Chinese Medicine*, 2019(5): 503–507.]
- [27] DAWSON C A, HORVATH S M. Swimming in small laboratory animals[J]. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 1970, 2(2): 5103278.
- [28] 郝洁, 邱智东, 朱凯, 等. 哈蟆油发酵乳对小鼠缓解体力疲劳能力的影响[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(10): 352–355. [HAO J, QIU Z D, ZHU K, et al. Effect of fermented milk with toad oil on the ability to relieve physical fatigue in mice[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2015, 36(10): 352–355.]

- [29] 曾露露,王佳奇,黄宝亮,等.二氢杨梅素的抗疲劳作用研究[J].中国药学杂志,2016(23):41-45. [ZENG L L, WANG J Q, HUANG B L, et al. Study on the anti-fatigue effect of dihydromyricetin[J]. Chinese Journal of Pharmacology, 2016(23): 41-45.]
- [30] 黄宝亮,刘博宇,王佳奇,等.红参非皂苷类物质精氨酸双糖苷对小鼠疲劳及免疫功能的影响[J].中国药学杂志,2016,51(15):1296-1301. [HUANG B L, LIU B Z, WANG J Q, et al. Effects of arginine bisaccharide, a nonsaponin from red ginseng, on fatigue and immune function in mice[J]. Chinese Journal of Pharmacology, 2016, 51(15): 1296-1301.]
- [31] 周海涛,曹建民,林强,等.铁皮石斛对运动训练大鼠物质代谢及抗运动疲劳能力的影响[J].中国药学杂志,2013,48(19):1684-1687. [ZHOU H T., CAO J M, LIN Q, et al. Effects of *Dendrobium ironbark* on substance metabolism and anti-exercise fatigue in exercise-trained rats[J]. Chinese Journal of Pharmacology, 2013, 48(19): 1684-1687.]
- [32] 王莹,马莉,裴素萍,等.人参皂甙 Rg1 抗疲劳作用实验研究[C]//第六届全国中西医结合营养学术会议论文资料汇编.2015:89-91. [WANG Y, MA L, PEI S, et al. Experimental study on the anti-fatigue effect of ginsenoside Rg1[C]//. Compilation of paper materials of the 6th National Academic Conference on Integrative Medicine and Nutrition. 2015: 89-91.]
- [33] 刘娜,刘鲲,刘蕊川,等.人参皂苷对小鼠抗疲劳作用研究[J].光明中医,2015(9):1867-1869. [LIU N, LIU K, LIU B C, et al. Study on the anti-fatigue effect of ginsenosides in mice[J]. Guangming TCM, 2015(9): 1867-1869.]
- [34] 吕银娟.甘草三参汤抗心律失常及抗疲劳、耐缺氧作用的实验研究[D].武汉:湖北中医学院,2003. [LÜ Y J. Experimental study on the antiarrhythmic and anti-fatigue and hypoxia tolerance effects of *Glycyrrhiza glabra* Sangshen Tang[D]. Wuhan: Hubei College of Traditional Chinese Medicine, 2003.]
- [35] 王海桃,朱娜,李海僖,等.人参三七茶抗疲劳及免疫调节作用研究[J].西北药学杂志,2018,33(2):203-206. [WANG H T, ZHU N, LI H X, et al. Study on the anti-fatigue and immunomodulatory effects of ginseng *Panax ginseng* tea[J]. Northwest Journal of Pharmacy, 2018, 33(2): 203-206.]