

基于小鼠游泳计算机自动控制系统的人参抗疲劳作用研究

龚梦鹃¹, 谢媛媛², 邹忠杰^{1*}

(1. 广东药学院中药学院, 广州 510006; 2. 清华大学化学系, 北京 100084)

[摘要] 目的: 基于小鼠游泳计算机自动控制系统, 考察人参的抗疲劳作用。方法: 将小鼠随机分成5组, 人参低、中、高剂量组每天分别灌胃给予 2.5, 5, 10 g·kg⁻¹ 的人参水煎液, 空白组和气虚模型组则灌胃给予等体积的蒸馏水, 连续灌胃 14 d, 每天 1 次。除空白组给足量饲料外, 其余 4 组限制饲料(125 g·kg⁻¹·d⁻¹)。选用已完善的小鼠游泳计算机自动控制系统, 观察人参对游泳计算机自动管理系统的指标评价体系的影响及对气虚小鼠体重, 运动后血乳酸(LAC)和尿素氮(BUN)的影响。结果: 10 g·kg⁻¹ 人参水煎液能延长气虚小鼠负重游泳的下沉时间(ST)和死亡时间(TD), 增加不动时间(IT)、游泳时间(SWT)、首次下沉时间(FST)、游泳距离(SWD)及不动时间比率(ITR), 减少游泳时间比率(SWR); 并能明显增加气虚小鼠体重; 降低运动后的血乳酸(LAC)、血清尿素氮(BUN)。结论: 人参能提高气虚小鼠的抗疲劳能力, 且从行为学上看人参可使不动时间比率延长、游泳时间比率缩短而增加耐力。

[关键词] 人参; 气虚; 抗疲劳

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)03-0140-04

[doi] 10.11653/syfj2014030140

[收稿日期] 20130408(009)

[基金项目] 广东省科技厅项目(2012B060300035)

[第一作者] 龚梦鹃, 硕士, 副教授, 从事神经药理学研究, Tel: 18719379003, E-mail: gongmengjuan@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 邹忠杰, 副教授, 从事中药药效学评价, E-mail: zouzongjie@hotmail.com

- [2] 吴永宁, 陈东生, 付磊, 等. 菝葜三种提取物活血化痰药理作用研究[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(6): 448.
- [3] 王涛, 王鹏. 菝葜乙酸乙酯提取物抗癌活性的实验研究[J]. 肿瘤基础与临床, 2007, 20(3): 234.
- [4] 阮金兰, 邹健. 菝葜的抗炎活性成分研究[J]. 医药导报, 2005, 24(8): 670
- [5] 赵钟祥, 金晶, 方伟, 等. 菝葜多酚类成分抗氧化活性的研究[J]. 医药导报, 2008, 27(7): 765.
- [6] 赵钟祥, 冯育林, 阮金兰, 等. 菝葜化学成分及其抗氧化活性的研究[J]. 中草药, 2008, 3(7): 975.
- [7] Yuanli Li, Guoping Gan, Huizhan Zhang, et al. A flavonoid glycoside isolated from *Smilax china* L. rhizome *in vitro* anticancer effects on human cancer cell lines[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 113: 115.
- [8] Si Etm Lee, Eun Mi Ju, Jeong Hee Kim. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from *Smilax china* root[J]. Exp Mol Med, 2001, 33(4): 263.
- [9] Shu Xiao-Shun, Gao Zhong-Hong, Yang Xiang-Liang. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Smilax china* L. aqueous extract [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 103: 327.
- [10] 阮金兰, 邹健, 蔡亚玲. 菝葜化学成分研究[J]. 中药材, 2005, 28(1): 24.
- [11] 杨立勇, 李雨生, 王祥培, 等. 菝葜药材 HPLC 指纹图谱的鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 104.
- [12] 舒孝顺, 高中洪, 杨祥良. 菝葜乙酸乙酯提取物对大鼠和小鼠的抗炎作用[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(3): 39.
- [13] 李熠, 匡双玉, 王北冰, 等. 姜黄素对巨噬细胞源性荷脂细胞胆固醇水平及 caveolin-1 表达的影响[J]. 南华大学学报, 2009, 37(1): 18.
- [14] Yokoyama C, Wang X. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low-density lipoprotein receptor gene [J]. Cell, 1993, 75: 187.

[责任编辑 聂淑琴]

Study on Anti-fatigue Function of *Panax ginseng* on Qi Deficiency Model Mice

GONG Meng-juan¹, XIE Yuan-yuan², ZOU Zhong-jie^{1*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[Abstract] Objective: To observe the anti-fatigue effect of *Panax ginseng* on qi deficiency model mice.

Method: Mice were randomly divided into five groups: three treatment groups (*P. ginseng* orally given for 14 days, 2.5, 5, 10 g·kg⁻¹·d⁻¹), model group and control group. Applying Qi deficiency model mice induced by dietary restriction, *P. ginseng* was established with the changes of body weight, blood lactic acid, blood urea nitrogen and weight-loaded swimming test with computer-aided automatic control system for measuring swimming in mice. **Result:** *P. ginseng* can increase body weight. The level of blood lactic acid and blood urea nitrogen descended. The sink time, the death time, immobility time, swimming time, first sink time, swimming distance and immobility time rate in 10 g·kg⁻¹ group was significantly prolonged and swimming time rate was shortened as compared with model group. **Conclusion:** *P. ginseng* has anti-fatigue effect on Qi deficiency model mice. It can enhance endurance of mice by prolonging immobility time rate and shortening swimming time rate.

[Key words] *Panax ginseng*; Qi deficiency; anti-fatigue

疲劳是人们连续学习或工作以后效率下降的一种现象。现代中医认为,疲劳为元气耗伤之虚证与心理变化(或不畅)双重因素所致,归于亚健康范畴,涉及五脏六腑,主要以脾、肝、肾为主。可以通过中医辨证组方调治,以达到预防、治疗、控制的目的。人参为五加科多年生草本植物人参的干燥根。主产吉林、辽宁、黑龙江。本品味甘、微苦,性微寒。归心、肺、脾经。主要成分有人参皂苷,均为三萜类化合物^[1]。此外还含有糖类化学成分、多肽类化合物、生物碱、挥发油等。有大补元气、补脾益肺、生津、安神之功效。本研究通过限制饮食造气虚模型,并选用已完善的小鼠游泳计算机自动控制系统^[2-3],观察人参对气虚小鼠体重、运动后血乳酸(LAC)和尿素氮(BUN)的影响及人参对小鼠游泳计算机自动管理系统的指标评价体系的改变。由此考查其抗疲劳作用及特点。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠 60 只,雌雄各半,体重 18 ~ 20 g,由中山大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(粤)2011-0029。

1.2 药物与试剂 人参 *Panax ginseng*,生品,购于北京同仁堂药店,由中国医学科学院药用植物研究所袁经权副研究员鉴定。取人参 500 g,加 10 倍量的水,开始煎煮。第 1 次 1 h,第 2 次 0.5 h,第 3 次 0.5 h。合并煎液,过滤蒸发浓缩,然后放入烘箱烘干成粉末。最终 1 g 人参粉末相当于原药材 4.26 g。

全血乳酸(LAC)试剂盒(批号 20090903),尿素氮(BUN)试剂盒(批号 20090903)均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 仪器 小鼠游泳计算机控制系统(广东药学院自主研制)。

2 方法

2.1 分组与给药 小鼠自然饲养 3 ~ 4 d,随机分成 5 组(空白组、气虚模型组、人参低、中、高剂量 3 个受试药组),每组 12 只。人参低、中、高剂量组每天分别 ig 给予 2.5, 5, 10 g·kg⁻¹ 的人参水煎液(按生药量计),空白组和模型组则 ig 给予等体积的蒸馏水,连续 ig 14 d,每天 1 次。依据“饥则损气”的原理造气虚模型,除空白组给足量饲料外,其余 4 组限制饲料(125 g·kg⁻¹·d⁻¹)^[4-5]。第 15 天开始进行各项实验测试。

2.2 血 LAC 的测定 末次给药 30 min 后小鼠尾部负重(体重 4%),然后将其放入水深 35 cm,水温(30 ± 0.5)℃ 游泳箱中游泳 10 min。休息 15 min 后,用毛细玻璃管眼球采血 20 μL,用全血乳酸测定试剂盒进行血乳酸测定。

2.3 血 BUN 的测定 末次给药 30 min 后,将小鼠放入水深 35 cm,水温(30 ± 0.5)℃ 游泳箱中不负重游泳 90 min,休息 60 min 后,拔眼球采血 0.5 mL(不加抗凝剂),依照血清 BUN 试剂盒说明书操作。于 520 nm 下,30 min 内测定各管吸光度(A),换算为血 BUN 含量。

2.4 小鼠负重游泳实验 末次给药后 30 min 后,鼠尾根部负荷 6% 体重的铅丝,置于小鼠游泳计算机自动控制系统中游泳(水深 35 cm,水温 25 ℃),记录各项行为学指标。通过小鼠游泳计算机自动控制系统可记录和比较小鼠游泳实验中的各项行为学指标如:游泳时间(SWT, swimming time),不动时间(IT, immobility time),死亡时间(TD, time of death),首次下沉时间(FST, first sink time),下沉时间(ST, sink time),游泳距离(SWD, swimming distance),游泳时间比率(SWR, swimming time rate):游泳时间/总时间 × 100%;不动时间比率(ITR, immobility time rate):不动时间/总时间 × 100%;下沉时间比率(STR, sinking time rate):下沉时间/总时间 × 100%。

各项指标的含义如下,SWT:游泳过程中动物运动时间(游泳定义为逃脱行为,包括四处游动、四肢划动水面);IT:游泳过程中动物静止休息的时间(四肢不动漂浮于水面,仅头部露出水面呼吸判断为不动状态);TD:动物从放入测试箱开始到体力耗竭的时间。(动物沉入水中 10 s 不能浮出水面就判断为体力耗竭);FST:从实验开始至第一次没于水面下(1 s < t < 10 s)的时间;ST:从动物首次下沉至死亡(实验结束)的时间;SWD:规定时间内(或死亡前)动物的游泳路程;SWR:游泳时间/总时间 × 100%;ITR:不动时间/总时间 × 100%;STR:下沉时间/总时间 × 100%^[6]。

2.5 统计学处理 所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 11.0 软件进行统计分析,计量资料用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对气虚小鼠体重的影响 造模小鼠实验的前 7 d 觅食活动增强,频咬铁笼。7 d 后逐渐安静,10 d 后出现精神不振、活动减少、毛松、眼眶变小、鼠尾颜色淡白、行动迟缓。空白组和人参高剂量组小鼠活动灵活,皮毛光泽,鼠尾粉红。人参水煎液对气虚小鼠体重的影响见表 1,造模组控食 7 d 后,模型组与空白组体重出现显著性差异。直到第 14 天,高剂量组动物的体重明显高于模型组。

3.2 对气虚小鼠血 LAC, BUN 的影响 人参水煎液对小鼠负重 4% 游泳 10 min,休息 15 min 后 LAC 的影响如表 2 所示,与空白组对比,气虚小鼠游泳后 LAC 显著性增加(*P* < 0.05)。与模型组比,人参水煎液高剂量组能明显降低气虚小鼠运动后的 LAC (*P* < 0.05)。

表 1 人参水煎液对气虚小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体重/g		
		给药前	给药后 7 d	给药后 14 d
空白	-	22.60 ± 0.74	28.17 ± 2.20 ³⁾	31.17 ± 3.52 ³⁾
模型	-	23.03 ± 0.97	20.02 ± 0.92	18.16 ± 1.24
人参	2.5	22.73 ± 0.71	20.10 ± 0.81	19.12 ± 0.78
	5	23.09 ± 0.7	20.07 ± 0.51	19.10 ± 0.92
	10	22.58 ± 1.33	19.95 ± 1.19	20.22 ± 0.75 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001 (表 2 ~ 4 同)。

BUN 与机体机能、疲劳程度以及负荷量的大小呈密切正相关,因此可作评定运动量的指标^[7]。人参水煎液对小鼠不负重游泳 90 min,休息 60 min 后 BUN 的影响如表 2 所示,与空白组对比,气虚小鼠在游泳后 BUN 显著增加(*P* < 0.05)。与模型组比较,人参水煎液高剂量组能明显降低运动后的 BUN (*P* < 0.05)。

表 2 人参水煎液对气虚小鼠 LAC, BUN 的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)
mmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LAC	BUN
空白	-	5.41 ± 1.31 ¹⁾	6.51 ± 0.96 ¹⁾
模型	-	6.87 ± 1.02	9.03 ± 1.32
人参	2.5	5.72 ± 1.42	8.87 ± 1.62
	5	6.07 ± 1.99	8.92 ± 1.08
	10	5.48 ± 1.01 ¹⁾	7.32 ± 1.26 ¹⁾

3.3 对气虚小鼠游泳行为学的影响 游泳实验结果如表 3 所示。气虚小鼠体质下降,耐力减弱,与空白对照组比较,ST,TD 明显缩短(*P* < 0.05)。而人参水煎液低、中、高剂量组可不同程度的增强气虚小鼠的耐力,与模型组相比,10 g·kg⁻¹ 人参水煎液可明显延长 ST,TD,增加 SWT,IT, FST,SWD, ITR,但 SWR 缩短。由此可见人参可使不动时间比率延长、游泳时间比率缩短而增加耐力。

4 讨论

气虚是产生疲劳综合征的病机之一。本实验采用“饥则损气”的原理,限制小鼠进食,模型小鼠出现精神不振、活动减少等气虚症状。人参水煎液高剂量组可拮抗小鼠“气虚证”症状,明显增加其体重。

血 LAC, BUN 在运动时变化明显,而且变化程度与运动负荷强度一致,可作为疲劳的评价指标。LAC 作为无氧酵解的产物,乳酸解离生成的氢离子占肌肉中酸性物质解离的 85% 以上,乳酸的增加使

表3 人参水煎液对小鼠负重6%游泳至死亡的影响的行为学指标($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	IT /s	SWT /s	FST /s	ST /s	ITR /%	SWR /%	STR /%	SWD /cm	TD /s
空白	-	174 ± 20 ²⁾	161 ± 11 ²⁾	335 ± 202 ³⁾	109 ± 76	39 ± 18 ²⁾	36 ± 11 ¹⁾	24 ± 16	677 ± 218 ³⁾	445 ± 213 ³⁾
模型	-	25 ± 11	69 ± 13	94 ± 30	57 ± 48	16 ± 8	45 ± 13	37 ± 20	404 ± 80	152 ± 56
人参	2.5	85 ± 32	115 ± 14	200 ± 181	79 ± 64	30 ± 17	41 ± 9	28 ± 22	441 ± 222	280 ± 179 ¹⁾
	5	79 ± 17 ²⁾	109 ± 9 ²⁾	188 ± 92 ²⁾	154 ± 124 ¹⁾	23 ± 22	31 ± 14 ¹⁾	45 ± 21	590 ± 202 ¹⁾	343 ± 149 ³⁾
	10	109 ± 19 ²⁾	112 ± 10 ²⁾	222 ± 97 ³⁾	132 ± 91 ¹⁾	30 ± 12 ²⁾	31 ± 10 ¹⁾	37 ± 13	571 ± 135 ²⁾	355 ± 162 ³⁾

肌肉中氢离子浓度上升,pH 值下降,进而引起一系列生化变化,所以血乳酸水平能比较准确地反映机体的疲劳程度^[8]。BUN 是运动时物质代谢的产物,它随劳动及运动负荷的增加而增加,机体对负荷适应能力越差,BUN 的增量就越明显。本实验结果表明,10 g·kg⁻¹高剂量人参水煎液能显著降低运动后小鼠的乳酸累积并降低血清尿素氮含量。

小鼠负重游泳实验中小鼠游泳至死亡的时间可作为判断小鼠耐力程度的客观指标^[9-10]。本实验在小鼠游泳实验中采用了小鼠计算机自动控制系统,除记录小鼠的死亡时间(TD)外,还可记录其他指标游泳时间(SWT)、不动时间(IT)、首次下沉时间(FST)、下沉时间(ST)、游泳距离(SWD)、游泳时间比率(SWR)、不动时间比率(ITR)、下沉时间比率(STR),这些指标在评价中药的抗疲劳作用中从行为学上表现了一定的意义,而且上述指标均通过计算机自动控制系统分析整理输出,是一套规范、敏感的指标评价体系^[3]。本实验的结果表明 10 g·kg⁻¹人参水煎液延长小鼠的死亡时间和下沉时间;10 g·kg⁻¹人参水煎液还能延长气虚小鼠负重游泳的 IT,SWT,FST,SWD,ITR,减少游泳时间比率(SWR)。本研究证实了人参提高气虚小鼠的抗疲劳能力,并从行为学上发现了其抗疲劳的特点,即使不动时间比率延长、游泳时间比率缩短而增加耐力。

[参考文献]

[1] 王洪平,杨鑫宝,杨秀伟,等. 吉林人参根和根茎的化

学成分研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(17):2807.
 [2] 龚梦鹃,刘新民,王立为,等. 小鼠游泳的计算机自动管理系统[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):39.
 [3] 龚梦鹃,张煜. 小鼠游泳计算机自动控制系统的抗疲劳指标评价体系的建立[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(12):59.
 [4] 周梦圣. 对控制饲料量所致小白鼠虚证动物模型的研究和探讨[J]. 辽宁中医杂志,1989,2:10.
 [5] 林新艳,殷书梅,王宓,等. 黄芪精对血虚症、气虚症模型小鼠的药效学研究[J]. 中国药业,2012,21(6):19.
 [6] 龚梦鹃,谢媛媛,邹忠杰. 枸杞对阴虚小鼠的抗疲劳作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(14):171.
 [7] 龚晨睿,李宇红,马良,等. 红景天复合制剂对小鼠运动代谢指标的影响[J]. 湖北预防医学杂志,2002,13(6):5.
 [8] Coombes J S, Mc Naughton L R. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise [J]. J Sports Med Phys Fitness, 2000, 40(3):240.
 [9] Tanaka M, Makamura F, Mizokawa S, et al. Establishment and assessment of a rat model of fatigue [J]. Neurosci Lett, 2003, 352(3):159.
 [10] 夏星,钟振国,林彩云,等. 罗汉果皂苷抗疲劳及耐缺氧作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(17):198.

[责任编辑 聂淑琴]