

# 星虫多糖抗疲劳作用实验研究

李江峰<sup>1</sup>,葛卫红<sup>1\*</sup>,沈先荣<sup>2</sup>,刘玉明<sup>2</sup>

(1. 浙江中医药大学,杭州 310053; 2. 海军医学研究所,上海 200433)

**[摘要]** 目的:观察纯化后的星虫多糖(*Sipunculus nudus* polysaccharide, SNP)的抗疲劳作用。方法:以不同剂量的 SNP (50, 100, 200 mg·kg<sup>-1</sup>)对小鼠 ig 给予受试物 7 d 后测定各组的小鼠力竭游泳的持续时间,运动后血清尿素氮(BUN)、肌糖原、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性。结果:小鼠给药 7 d 后,对照组负重游泳时间为(115 ± 40) s, SNP 中、高剂量组负重游泳时间分别为(206 ± 93), (203 ± 74) s, 与对照组比较显著延长( $P < 0.01$ );力竭运动 90 min 后,对照组 BUN 含量为(8.72 ± 0.46) mmol·L<sup>-1</sup>, SNP 中、高剂量组分别为(7.55 ± 0.70), (7.89 ± 0.42) mmol·L<sup>-1</sup>, 与对照组比较显著降低( $P < 0.01$ );对照组肌糖原含量为(0.41 ± 0.04) mg·g<sup>-1</sup>, SNP 中、高剂量组含量分别为(1.01 ± 0.18), (1.06 ± 0.22) mg·g<sup>-1</sup>, 与对照组比较显著提高( $P < 0.01$ )。此外, SNP 高剂量组肝组织中 SOD, GSH-Px 活性明显高于对照组( $P < 0.01$ )。结论:星虫多糖具有显著的抗疲劳作用, 并有其最适剂量。

**[关键词]** 星虫多糖; 负重游泳; 肌糖原; 血清尿素氮; 抗氧化酶; 抗疲劳

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0212-04

**[收稿日期]** 20120603(003)

**[第一作者]** 李江峰, 硕士研究生, 从事中药药理研究, Tel:13917403556, E-mail:mohender@126.com

**[通讯作者]** \*葛卫红, 教授, 博士生导师, 从事中药抗炎免疫与中药新产品开发研究, Tel:13906522241, E-mail:geweihong@hotmail.com

- [13] FDA 批准日本汉方药小柴胡汤直接进行治疗肝癌的 II 期临床[J]. 国外医药:植物药分册, 2003, 18(4):179.
- [14] 徐新保, 冷希圣, 杨晓. 四氯化碳/乙醇诱导 129/Sv 小鼠产生原发性肝细胞癌模型的建立[J]. 消化外科, 2005, 4(1):34.
- [15] Nicole Kristine Bernard. Glucagon-like peptide 2 and inflammatory bowel disease[M]. University of Calgary, Department of Medical Sciences, 2000:19.
- [16] 中国医学科学院卫生研究所, 吉林医科大学基础医学部, 武汉医学院卫生系. 卫生统计学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1978:426.
- [17] Tokushige K, Hashimoto E, Horie Y, et al. Hepatocellular carcinoma in Japanese patients with nonalcoholic fatty liver disease, alcoholic liver disease, and chronic liver disease of unknown etiology: report of the nationwide survey[J]. J Gastroenterol, 2011, 46(10):1230.
- [18] Yip-Schneider M T, Doyle C J, McKillop I H, et al. Alcohol induces liver neoplasia in a novel alcohol-preferring rat model[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2011, 35(12):2216.
- [19] Petroianu A, Alberti L R. Importance of the new radiographic sign of fecal loading in the cecum in the presence of acute appendicitis in comparison with other inflammatory diseases of the right abdomen[J]. Eur J Intern Med, 2008, 19(1):22.
- [20] Liu K J, Wang S L, Xie D P, et al. Sexual differences of the inhibitory effect of ethanol on gastrointestinal motility: *in vivo* and *in vitro* studies[J]. Chin J Physiol, 2006, 49(4):199.
- [21] Wegener M, Schaffstein J, Dilger U, et al. Gastrointestinal transit of solid-liquid meal in chronic alcoholics[J]. Dig Dis Sci, 1991, 36(7):917.
- [22] Wang H J, Zakhari S, Jung M K. Alcohol, inflammation, and gut-liver-brain interactions in tissue damage and disease development [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(11):1304.
- [23] Zheng S M, Cui D J, Ouyang Q. Gut-liver axis plays a role in hepatocarcinogenesis of patients with Crohn's disease [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(26):3171.
- [24] Bonaz B. Brain-gut interactions [J]. Rev Med Interne, 2010, 31(8):581.

[责任编辑 聂淑琴]

## Anti-fatigue Effects of *Sipunculus nudus* Polysaccharide in Mice

LI Jiang-feng<sup>1</sup>, GE Wei-hong<sup>1\*</sup>, SHEN Xian-rong<sup>2</sup>, LIU Yu-ming<sup>2</sup>

(1. Zhejiang Traditional Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

2. Naval Medical Research Institute, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective:** It was reported that *Sipunculus nudus* polysaccharide (SNP) had effects on fatigue in the early time in our laboratory, in the article we studied the anti-fatigue effects of purified SNP on the fatigue resistance. **Method:** The treatment groups were given various doses of SNP (50, 100, 200 mg·kg<sup>-1</sup>) for 7 consecutive days, respectively, and the longest swimming time was detected after loaded swimming test. the level of serum urea nitrogen (BUN), muscle glycogen and the activity of hepatic antioxidant including superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were detected. **Result:** After 7 days, the mouse swimming time in the blank control group was (115 ± 40) s, and the swimming time with medium and high dose feeding of purified *Sipunculus nudus* polysaccharide was (206 ± 93), (203 ± 74) s, respectively, longer than blank control groups ( $P < 0.01$ ). The serum urea nitrogen of the treated groups was (8.72 ± 0.46) mmol·L<sup>-1</sup>, and that in medium and high dose group was (7.55 ± 0.70), (7.89 ± 0.42) mmol·L<sup>-1</sup>, respectively, lower than blank control groups ( $P < 0.01$ ). Besides, the muscle glycogen in the blank control group was (0.41 ± 0.04) mg·g<sup>-1</sup>, and that in medium and high dose groups was (1.01 ± 0.18), (1.06 ± 0.22) mg·g<sup>-1</sup>, higher than blank control groups ( $P < 0.01$ ). Moreover, the activity of SOD and GSH-Px in high dose group in hepatic tissue was increased compared with blank control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** SNP has noticeable anti-fatigue effect on mice, especially in intermediate at dose group (100 mg·kg<sup>-1</sup>) and its strongest effect on most biomarkers is found when given an intermediate dose.

**[Key words]** *Sipunculus nudus* polysaccharide; loaded swimming test; muscle glycogen; serum urea nitrogen; hepatic antioxidant; anti-fatigue

方格星虫(*Sipunculus nudus*)为星虫动物门星虫科方格星虫属动物,俗称沙虫,是我国著名的海珍品之一。本实验室前期大量工作研究表明,方格星虫提取物具有抗疲劳、延缓衰老、抗辐射、抗氧化、耐缺氧、耐高温等功效,并且对心血管系统具有明显的保护作用<sup>[1-3]</sup>。此外,Zhang C X等<sup>[4]</sup>通过对星虫提取物的抗炎镇痛作用的研究,得出海洋星虫水提液对外周和中枢神经具有抗炎、镇痛作用。本文在海洋星虫粗多糖抗疲劳作用研究的基础上<sup>[5]</sup>,对粗多糖进行分离纯化(其纯化工艺及鉴定资料另文发表),并对抗疲劳作用进行了研究,为进一步研究和合理开发利用海洋星虫提供理论依据。

### 1 材料

**1.1 星虫多糖** 方格星虫购于广西北海水产市场,经上海海洋大学水产与生命学院季高华教授鉴定为裸体方格星虫 *Sipunculus nudus* Linnaeus。星虫多糖,由上海海军医学研究所提供,高效液相色谱仪(HPLC)检测纯度为86.4%以上。

**1.2 香菇多糖**<sup>[6]</sup> 购自浙江普洛康裕天然药物有

限公司(含量为19.4%),批号110701。

**1.3 试剂** 尿素氮(BUN)测定试剂盒(批号20111110)、肌糖原检测试剂盒(批号20111104)、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(批号20111207)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒(批号20111214)均购自南京建成生物工程研究所。

**1.4 动物** ICR雄性小鼠50只,体重(20 ± 2)g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证号SCXK(沪)2008-0016,SPF级。

**1.5 仪器** 759型紫外-可见光分光光度计(上海奥普勒仪器有限公司),Allegra 64R型低温冷冻离心机(Beckman公司),TB-214型精密分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司),Fast Prep-24型组织核酸快速提取仪(MP Biomedicals),XW-80A型微型旋涡混合仪器(上海沪西仪器厂),电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂)。

### 2 方法

**2.1 星虫多糖的前处理** 在本实验室前期研究的基础上<sup>[6-7]</sup>,采用DEAE-52离子交换柱及

SephadexG-200 柱层析对星虫多糖进行分离纯化,经 HPLC 色谱检测纯度为 86.4% 以上。

**2.2 动物分组** 两批健康 ICR 雄性小鼠每批各 50 只,按体重随机分成 5 组,香菇多糖对照组(104 mg·kg<sup>-1</sup>),星虫多糖低(50 mg·kg<sup>-1</sup>)、中(100 mg·kg<sup>-1</sup>)、高剂量(200 mg·kg<sup>-1</sup>)组和空白对照组。空白对照组给予同体积的蒸馏水,每组 10 只,ig 给药,自由摄食和饮水,ig 量为 10 mL·kg<sup>-1</sup>体重,每日 1 次,连续给药 7 d。

**2.3 指标测定**

**2.3.1 力竭游泳试验**<sup>[8-10]</sup> 第 1 批小鼠末次给予受试物 30 min 后称量体重,将鼠尾根部负荷 10% 体重的铅皮,放入恒温游泳池[水深 40 cm,(25±2)℃]中游泳,以小鼠自头部沉入水中后 10 s 仍不能浮出水面为力竭标准,记录自游泳开始至力竭的时间作为小鼠力竭性游泳时间。

**2.3.2 BUN、肌糖原含量及抗氧化酶(SOD, GSH-Px)活性测定** 第 2 批小鼠末次给药 30 min 后,在温度(25±2)℃的游泳池中游泳 90 min,热风烘干,安静 60 min 后摘眼球取血,脱臼处死,取肝脏,股四头肌,分别按试剂盒说明测定血清中 BUN 含量、肌糖原的含量和肝组织中 SOD, GSH-Px 的活力。

**2.4 统计方法** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 对小鼠力竭游泳时间的影响** 与空白对照组比较,香菇多糖能显著提高小鼠力竭游泳时间。中、高剂量组小鼠力竭游泳时间显著高于空白对照组小鼠,分别是空白对照组小鼠的 1.79 倍(*P* < 0.01)、1.76 倍(*P* < 0.01)。低剂量组虽然能延长小鼠力竭游泳时间,但无统计学意义。实验结果提示 SNP 能延长小鼠力竭游泳时间,并以中剂量组效果最为明显。见表 1。

**3.2 对小鼠力竭运动后肌糖原含量的影响** 与空白对照组相比,香菇多糖对照组小鼠运动后,肌糖原的含量显著增加(*P* < 0.05),星虫多糖中、高剂量组小鼠肌糖原含量均有升高(*P* < 0.01)。实验结果提示星虫多糖可提高运动后小鼠肌糖原含量,具有延缓运动导致的肌糖原降低的作用。见表 1。

**3.3 对小鼠力竭运动后血清尿素氮含量的影响** 与空白对照组相比,香菇多糖对照组小鼠运动后,血清尿素氮的含量显著降低(*P* < 0.01)。星虫多糖受试组小鼠血清尿素氮含量均有降低,其中星虫多糖

中、高剂量组均有显著性差异(*P* < 0.01)。结果提示星虫多糖能降低小鼠力竭运动后血清尿素氮含量。见表 1。

表 1 星虫多糖对小鼠力竭运动后游泳时间、肌糖原和 BUN 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	力竭游泳 时间/s	肌糖原 /mg·g <sup>-1</sup>	BUN /mmol·L <sup>-1</sup>
空白对照	-	115 ± 40	0.41 ± 0.04	8.72 ± 0.46
香菇多糖	104	181 ± 110 <sup>1)</sup>	0.89 ± 0.43 <sup>1)</sup>	6.56 ± 0.54 <sup>2)</sup>
星虫多糖	50	159 ± 75	0.43 ± 0.13	8.68 ± 0.30
	100	206 ± 93 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.18 <sup>2)</sup>	7.55 ± 0.70 <sup>2)</sup>
	200	203 ± 74 <sup>1)</sup>	1.06 ± 0.22 <sup>2)</sup>	7.89 ± 0.42 <sup>2)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>*P* < 0.05, <sup>2)</sup>*P* < 0.01(表 2 同)。

**3.4 对小鼠力竭运动后肝脏抗氧化酶活性的影响** 与空白对照组比较,香菇多糖对照组、星虫多糖中剂量组小鼠运动后, SOD 活力有所提高,但无统计学意义;星虫多糖高剂量组 SOD 活力显著增加(*P* < 0.01)。见表 2。小鼠力竭运动后,受试组小鼠与空白组相比 GSH-Px 活力均有增加,其中星虫多糖高剂量组 GSH-Px 活力显著增加(*P* < 0.01)。见表 2。

表 2 星虫多糖对运动后小鼠肝组织中抗氧化酶活性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	SOD	GSH-Px
空白对照	-	89.43 ± 5.05	3 461 ± 744
香菇多糖	104	92.73 ± 19.62	3 261 ± 346
星虫多糖	50	85.52 ± 6.47	3 527 ± 291
	100	93.19 ± 11.40	3 462 ± 417
	200	97.59 ± 4.34 <sup>2)</sup>	4 409 ± 437 <sup>2)</sup>

**4 讨论**

疲劳的最直接和最客观的表现是运动耐力的下降,而力竭游泳时间一直以来被该领域的研究作为反映运动耐力的重要指标。实验结果表明星虫可明显延长小鼠力竭游泳时间,并且效果好于前期本实验室报道的粗多糖对运动小鼠的抗疲劳作用。

糖是肌肉组织的重要能量来源。机体无论是进行短时间剧烈运动还是长时间耐力训练,肌肉组织的能量绝大部分由糖代谢供给,当可利用的糖耗竭时,才动用脂肪和蛋白质<sup>[11]</sup>。肌糖原的储量和代谢能力是决定耐力的重要因素。大量的研究表明运动导致的体力衰竭总是和肌糖原的耗竭同时发生的。随着肌糖原消耗的增加,机体为维持血糖水平,将动用肝糖原而导致肝糖原减少<sup>[12]</sup>。因此,肌糖原和肝糖原含量是反映疲劳程度的敏感指标。实验结果显

示,受试组小鼠运动后肌糖原显著高于对照组,提示星虫多糖在维持运动后小鼠的肌糖原含量,从而为机体提供较好的能量储备上起着重要的作用。

当机体在运动时,体内能量平衡遭到破坏,肌糖原消耗,血糖降低,蛋白质及氨基酸的分解代谢加强。BUN 是蛋白质代谢产物,在长时间较大强度运动时,BUN 的变化范围明显,可用来作为评定运动量的指标。BUN 与人的身体机能、疲劳程度以及负荷量的大小呈密切正相关。通常 BUN 含量随运动负荷增加而升高,身体对负荷适应性越差,则尿素氮产生越多<sup>[13]</sup>。实验结果表明,血清尿素氮能降低血清尿素氮含量,具有缓解体力疲劳的作用。

短期剧烈运动或长期耐力训练可使机体内自由基的产生增加,因而会降低机体的抗氧化能力,导致机体组织细胞膜结构化损伤或引起机体疲劳。SOD 以机体中产生的氧自由基为底物,通过催化超氧阴离子形成过氧化氢而将其清除。从实验结果看,受试组除星虫多糖低剂量组外,SOD 含量均增高,这说明小鼠力竭运动使机体内自由基的产生增加,引起机体的疲劳。一方面,星虫多糖可能通过改善机体供氧能力,改善运动机体微循环,使 SOD 含量增加,活力增强;另一方面可能通过减少机体内超氧阴离子自由基的生成,使 SOD 得消耗相应降低,从而调节机体维持 SOD 的动态平衡。

GSH-Px 是处于自由基防御系统的最前沿的另一种主要的抗氧化酶<sup>[14]</sup>,在前期粗多糖的抗疲劳研究中,并未对此指标进行研究。本文通过对 GSH-Px 含量进行测定,实验结果表明星虫多糖对力竭游泳小鼠肝组织中 GSH-Px 含量的影响显著,受试组的 GSH-Px 含量比空白对照组高出 338 个活力单位,具有显著性差异。实验表明星虫多糖具有提高小鼠在力竭运动条件下肝脏 GSH-Px 活性的作用,对提高运动机体抗自由基能力,保护线粒体功能具有重要意义。

综上所述,我们得出星虫多糖能延长小鼠力竭游泳时间,提高肌糖原含量,降低血清尿素氮水平,增强力竭运动后小鼠肝脏抗氧化酶活性,具有显著的抗疲劳作用,有可能开发为抗疲劳、提高机体运动能力的药物。

## [参考文献]

- [ 1 ] 黄哲元. 星虫 *Phascolosoma* 制成品-土蒜冻的药学研究[J]. 中国海洋药物,1990,9(3):52.
- [ 2 ] 沈先荣,蒋定文,贾福星,等. 海洋星虫提取物的抗疲劳作用研究[J]. 中华航海医学与气学杂志,2003,10(2):112.
- [ 3 ] 沈先荣,蒋定文,陆敏,等. 方格星虫提取物的抗辐射作用[J]. 中国海洋药物,2008,27(2):33.
- [ 4 ] Zhang C X, Dai Z R, Cai Q X. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Sipunculus nudus* L. extract [J]. J Ethnopharmacol,2011,137(3):1177.
- [ 5 ] 刘玉明,钱甜甜,莫林芳,等. 方格星虫多糖对运动小鼠抗疲劳作用实验研究[J]. 中国海洋药物,2012,31(3):41.
- [ 6 ] 杨娟,吴谋成,张声华,等. 香菇蛋白多糖抗疲劳作用研究[J]. 营养学报,2001,23(4):350.
- [ 7 ] 刘玉明,钱甜甜,何颖,等. 方格星虫多糖不同提取工艺的比较研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(6):1454.
- [ 8 ] 杨道宁,李丽. 运动性疲劳动物模型制备的研究进展[J]. 沈阳体育学院学报,2011,30(3):80.
- [ 9 ] 王丛笑,周军. 对中药抗运动性疲劳研究中动物模型的一些思考[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,(3):83.
- [ 10 ] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:807.
- [ 11 ] Coyle E F, Jeukendrup A E, Wagenmakers A J M, et al. Fatty acid oxidation is directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise [J]. Am J Physiol, 1997,273:E268.
- [ 12 ] Wasserman D H, Cherrington A D. Regulation of extramuscular fuel sources during exercise. In: Rowell L B, Shepherd J T, eds. Handbook of physiology, section 12: exercise: regulation and integration of multiple systems [M]. New York: Oxford University Press, 1996:1036.
- [ 13 ] 冯玉华,阎润红,段剑飞,等. 升阳益胃汤抗疲劳的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(8):60.
- [ 14 ] 孙存普,张建中,段绍瑾,等. 自由基生物学导论[M]. 合肥:中国科学技术大学出版社,1999:6.

[责任编辑 聂淑琴]