

罗汉果皂苷抗疲劳及耐缺氧作用

夏星¹, 钟振国^{2*}, 林彩云², 何伟平³, 朱晓韵³

(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510405; 2. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001;
3. 桂林集琦实力天然物科技有限公司, 广西 桂林 541213)

[摘要] 目的: 考察罗汉果皂苷的抗疲劳、耐缺氧作用。方法: 将小鼠随机分为空白组, 模型组, 阳性对照组(红景天胶囊 570 mg·kg⁻¹), 罗汉果皂苷高剂量(300 mg·kg⁻¹), 中剂量(150 mg·kg⁻¹)及低剂量组(75 mg·kg⁻¹)。连续灌胃给药 21 d 后采用力竭游泳实验和常压耐缺氧实验, 考察罗汉果皂苷对小鼠的抗疲劳和耐缺氧能力的影响, 并测定服用罗汉果皂苷后肝糖原和肌糖原的变化, 及运动后血尿素氮、血乳酸含量和乳酸脱氢酶活性的变化。结果: 罗汉果皂苷显著延长小鼠力竭游泳时间($P < 0.05$), 150, 75 mg·kg⁻¹组小鼠耐缺氧存活时间显著延长($P < 0.05$)。服用罗汉果皂苷后, 小鼠肝糖原和肌糖原含量均显著增加($P < 0.001$), 运动后血尿素氮和乳酸生成显著减少($P < 0.001$), 乳酸脱氢酶活性显著增强($P < 0.05$)。结论: 罗汉果皂苷能显著增强小鼠的抗疲劳和耐缺氧能力, 其作用可能与增加机体糖原储备和加速乳酸代谢有关。

[关键词] 罗汉果皂苷; 抗疲劳; 力竭游泳; 耐缺氧

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0198-04

Anti-fatigue and Hypoxia Tolerance Effect of Mogrosides in Mice

XIA Xing¹, ZHONG Zhen-guo^{2*}, LIN Cai-yun², HE Wei-pin³, ZHU Xiao-yun³

(1. School of Chinese Pharmaceutical Science, Guangzhou University of Chinese Medicine,

[收稿日期] 20120107(006)

[基金项目] 中国博士后科学基金(20110490870); 广西自然科学基金创新研究团队项目(2011GXNSFF018006)

[第一作者] 夏星, 博士, 副教授, 从事天然产物活性及作用机制研究, Tel: 0771-2279423, E-mail: xiaxing66@163.com

[通讯作者] * 钟振国, 博士, 教授, 从事中药新药研究与开发, Tel: 0771-3945766, E-mail: zhongzg@gxcmu.edu.cn

- [4] 王洋. 艾蒿中黄酮的抗肿瘤活性[J]. 国外医学中医中药分册, 2005, 27(1): 49.
- [5] 涂华, 陈碧琼, 张燕军. 天然类黄酮物质的提取工艺研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 277.
- [6] 周峰, 秦路平, 连桂芳, 等. 艾叶的化学成分、生物活性和植物资源[J]. 药学实践杂志, 2000, 18(2): 96.
- [7] 牛犇. 艾蒿黄酮的提取工艺及其应用[P]. 中国: ZL 2008 1 0018036. 7, 2010. 8. 11.
- [8] 杨伟鹏, 林娜, 刘春芳, 等. 水母雪莲总黄酮和水母雪莲细胞培养物总黄酮对致炎性大鼠血清中炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 39.
- [9] 任淑娟, 考玉萍, 陈世虎. 艾叶炒炭炮制品中总黄酮的含量测定[J]. 陕西中医学院学报, 2009, 32(4): 70.
- [10] 赵钦祥, 郑博秀, 杨霞. 生艾叶及其不同炮制品凝血作用研究[J]. 时珍国医国药研究, 1996, 4(7): 238.
- [11] 李慧. 艾叶的药理研究进展及开发应用[J]. 基层中医药杂志, 2002, 16(3): 51.
- [12] 程康, 方泰惠, 赵亚, 等. 清颜如玉方治疗寻常痤疮实验研究[J]. 日用化学品科学, 2007, 30(6): 23.
- [13] 邹移海, 徐志伟, 苏钢强. 实验动物学[M]. 北京: 科学出版社, 2004, 8: 176.
- [14] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 256.
- [15] 韩笑, 王莉, 王海燕, 等. 都梁丸提取液对炎性疼痛动物模型镇痛作用研究[J]. 贵阳中医学院学报, 2003, 25(3): 45.
- [16] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 246.
- [17] 鞠强, 沈丹蓓, 夏隆庆. 人皮脂腺细胞与雄激素关系的研究进展[J]. 国外医学: 皮肤性病学分册, 2002, 28(6): 372.
- [18] 韦无边. 痤疮的治疗进展[J]. 右江民族医学院学报, 2008, 30(3): 488.

[责任编辑 李玉洁]

Guangzhou 510405, China; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

3. Guilin Jiqi Shili Natural Plant Science & Technology Co., Guilin 541213, China)

[Abstract] Objective: To evaluate anti-fatigue and hypoxia tolerance effect of mogrosides in mice.

Method: Mice were randomly divided into normal control group, model control group, positive control group (Hongjingtian capsule, $570 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), mogrosides high dosage ($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), medium dosage ($150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and low dosage groups ($75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). After orally administered for 21 days consecutively, exhaustive swimming test and atmospheric hypoxia test were employed to evaluate anti-fatigue and hypoxia tolerance effect of mogrosides in mice. Furthermore, liver glycogen and muscle glycogen level were examined, urea nitrogen level, lactic acid level and lactate dehydrogenase activity after swim were determined. **Result:** Mogrosides significantly extended swimming time ($P < 0.05$), and extended hypoxia survival time at $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($P < 0.05$). Moreover, liver glycogen and muscle glycogen level were significantly increased after treatment ($P < 0.001$), urea nitrogen level, lactic acid level were decreased ($P < 0.001$), lactate dehydrogenase activity was enhanced ($P < 0.05$). **Conclusion:** Mogrosides possesses abilities of anti-fatigue and hypoxia tolerance. The effects could be mediated by increased glycogen supplying and improved lactate metabolism.

[Key words] mogrosides; anti-fatigue; exhaustive swimming test; hypoxia tolerance

罗汉果为葫芦科罗汉果属的多年生藤本植物,主要分布于广西桂林地区。罗汉果果实为我国特有的药用植物,其性凉,味甘,有润肺止咳、凉血滑肠的功效,现代研究还发现罗汉果还有抗氧化、免疫调节和肝保护等作用^[1]。罗汉果中富含葫芦烷型三萜皂苷类成分,其中甜度极高的罗汉果甜苷 V 是常用于肥胖和糖尿病患者的代用糖。有研究发现,罗汉果苷类成分是罗汉果中活性较强的化学组分,具有镇咳平喘、调节血糖、肝脏保护及抗癌等作用^[2-3]。本课题组研究发现,罗汉果皂苷提取物具有显著的增强抗疲劳、耐缺氧能力的作用。

1 材料

1.1 动物 雄性昆明种小鼠,SPF 级,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,由广西医科大学实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(桂)2009-0002。

1.2 样品及试剂 罗汉果皂苷由桂林集琦实力天然物科技有限公司提供(批号 S20110307,罗汉果皂苷含量 $\geq 80\%$),提取工艺:罗汉果→破碎→水提取→合并二次提取滤液→澄清剂处理→pH 9 粗提液→大孔树脂吸附→乙醇梯度洗脱→真空浓缩→干燥→罗汉果皂苷样品。红景天胶囊,江苏康缘药业股份有限公司生产,批号 100702。

血乳酸试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110726,血乳酸脱氢酶试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110722,血尿素氮试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110704,肝/肌糖原试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110705。

1.3 仪器 BP211D 1/万克电子天平(德国赛多利斯),SUNRISE 酶标仪(奥地利 TECAN),微量加样器(法国 Gilson),Biofuge Stratos 高速低温离心机(德国 Heraeus),U1901 型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 小鼠随机分为空白对照组,模型对照组,阳性对照组(红景天胶囊, $570 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),罗汉果皂苷设 3 个剂量组,分别为高剂量($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),中剂量($150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),低剂量($75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$);各组动物连续 21 d 灌胃给予受试样品,空白对照和模型对照组分别灌胃蒸馏水。

2.2 力竭游泳实验 参照文献方法[4-5]进行力竭游泳实验,考察罗汉果皂苷对小鼠抗疲劳能力的影响。每组取 10 只小鼠,末次给药 1 h 后,于鼠尾系一质量为小鼠体重 7% 的铅块,将小鼠置于水深 30 cm 的游泳箱中,水温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右,强迫游泳至力竭,以小鼠全身没于水面以下,8 s 内不能浮出水面即为力竭,记录开始游泳至力竭的时间,为力竭游泳时间。

2.3 常压耐缺氧实验 参照文献方法[5-6]进行常压耐缺氧实验,考察罗汉果皂苷对小鼠耐缺氧能力的影响。力竭游泳实验后次日,每组取 10 只小鼠,灌胃 30 min 后,将小鼠放入盛有 10 g 新鲜钠石灰的 250 mL 广口瓶内,立即用涂以凡士林的瓶塞封口,记录小鼠从放入瓶内到最后一次呼吸停止所需时间,即为耐缺氧存活时间。

2.4 血尿素氮的测定 每组取 10 只小鼠,末次给药 30 min 后,不负重置于水深 30 cm 的游泳箱中,水温 25 ℃ 左右,游泳 90 min,休息 60 min 后立即眼眶后静脉丛采血。肝素抗凝,2 500 r·min⁻¹ 离心 15 min,取血浆按照试剂盒方法测定尿素氮浓度。

2.5 血乳酸及乳酸脱氢酶活力的测定 血尿素氮测定后次日,每组取 10 只小鼠,末次给药 30 min 后,于鼠尾系一质量为小鼠体重 5% 的铅块,25 ℃ 水中游泳 10 min,休息 20 min 后,眼眶后静脉丛取血,按照试剂盒方法测定全血乳酸值及乳酸脱氢酶活力。

2.6 肝糖原及肌糖原的测定 每组取小鼠 10 只,末次给药 30 min 后,立刻脱颈处死,取肝脏及股四头肌迅速以滤纸吸去附着的血液。称取约 50 mg,按照试剂盒方法测组织中糖原的含量。

2.7 统计分析 采用 SPSS 13.0 软件,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 罗汉果皂苷对小鼠力竭游泳时间的影响 结果见表 1。与模型对照组相比,3 个实验剂量的罗汉果皂苷均能显著延长小鼠力竭游泳时间($P < 0.05$,与模型对照组比较),其中 75 mg·kg⁻¹ 罗汉果皂苷对小鼠力竭游泳时间的延长作用强于 150 mg·kg⁻¹ 及 300 mg·kg⁻¹。

表 1 罗汉果皂苷对小鼠力竭游泳时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	力竭游泳时间 /s
模型对照	-	210.2 ± 18.4
红景天胶囊	570	472.4 ± 52.6 ³⁾
罗汉果皂苷	300	321.1 ± 42.5 ¹⁾
	150	452.7 ± 131.0 ¹⁾
	75	343.2 ± 49.5 ²⁾

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ (表 2-4 同)。

3.2 罗汉果皂苷对小鼠耐缺氧存活时间的影响 结果见表 2。罗汉果皂苷 150,75 mg·kg⁻¹ 组小鼠耐缺氧存活时间显著长于模型对照组($P < 0.01$),150 mg·kg⁻¹ 延长耐缺氧存活时间的效果略强于阳性药红景天。但 300 mg·kg⁻¹ 组小鼠耐缺氧存活时间没有明显变化。

3.3 罗汉果皂苷对小鼠血尿素氮、血乳酸浓度及乳酸脱氢酶活力的影响 结果见表 3。模型对照组小鼠运动后血尿素氮含量显著增加($P < 0.05$),血乳

表 2 罗汉果皂苷对小鼠耐缺氧存活时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	耐缺氧存活时间 /s
模型对照	-	721.9 ± 16.4
红景天胶囊	570	801.7 ± 28.2 ²⁾
罗汉果皂苷	300	710.4 ± 25.9
	150	819.9 ± 33.6 ²⁾
	75	794.3 ± 19.7 ²⁾

酸积累量显著上升($P < 0.001$),但乳酸脱氢酶活力没有明显变化。罗汉果皂苷各剂量均能显著降低运动后血尿素氮生成($P < 0.001$),减少血乳酸的积累($P < 0.001$),显著增强乳酸脱氢酶活力($P < 0.05$)。

表 3 罗汉果皂苷对尿素氮、乳酸及乳酸脱氢酶活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	尿素氮 /mmol·L ⁻¹	乳酸 /mmol·L ⁻¹	乳酸脱氢酶 /U·L ⁻¹
空白对照	-	20.17 ± 0.34 ¹⁾	7.67 ± 0.87 ³⁾	10.70 ± 0.62
模型对照	-	21.92 ± 0.60	14.85 ± 0.96	9.63 ± 0.53
红景天胶囊	570	23.18 ± 0.82	8.12 ± 70 ³⁾	13.93 ± 0.69 ³⁾
罗汉果皂苷	300	13.38 ± 1.21 ³⁾	8.81 ± 0.44 ³⁾	15.47 ± 1.12 ²⁾
	150	14.17 ± 1.07 ³⁾	8.55 ± 0.73 ³⁾	15.86 ± 1.56 ²⁾
	75	14.53 ± 0.64 ³⁾	9.40 ± 0.62 ³⁾	12.97 ± 1.55 ¹⁾

3.4 罗汉果皂苷对小鼠肝糖原和肌糖原含量的影响 结果见表 4。3 个剂量组罗汉果皂苷均能显著增加小鼠肝糖原储备($P < 0.001$);且能显著增加肌糖原含量,罗汉果皂苷 150 mg·kg⁻¹ 增加肌糖原的效果最为显著($P < 0.001$)。

表 4 罗汉果皂苷对肝糖原及肌糖原含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肝糖原 /mg·g ⁻¹	肌糖原 /mg·g ⁻¹
空白对照	-	10.15 ± 1.13	0.51 ± 0.09
红景天胶囊	570	18.96 ± 2.85 ⁵⁾	0.94 ± 0.10 ⁵⁾
罗汉果皂苷	300	21.40 ± 1.52 ⁶⁾	0.97 ± 0.11 ⁴⁾
	150	22.39 ± 1.75 ⁶⁾	1.23 ± 0.07 ⁶⁾
	75	27.81 ± 2.39 ⁶⁾	1.24 ± 0.11 ⁵⁾

注:与空白对照组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$,⁶⁾ $P < 0.001$ 。

4 讨论

皂苷类成分是罗汉果中最受关注的化学成分,其在罗汉果中含量较高,且具有较强的清除自由基及抗脂质过氧化作用^[7],而机体在大量运动时会有大量氧自由基生成,引发的氧化应激是运动疲劳的

产生原因之一^[8],因此罗汉果皂苷可能具备一定的缓解运动疲劳的效果。通过本文的研究发现,连续21 d服用75~300 mg·g⁻¹罗汉果皂苷能显著延长小鼠力竭游泳时间,表明罗汉果皂苷有显著的抗疲劳作用。在常压耐缺氧实验中也发现,服用罗汉果皂苷的小鼠耐缺氧存活时间显著增加,表明其对缺氧状态下的组织可能有一定的保护作用,这与姚绩伟^[9]等对罗汉果水提物的研究结果一致,提示罗汉果皂苷可能是罗汉果产生抗疲劳作用的主要有效部位。

机体在剧烈运动或缺氧时,肌肉组织的供氧不能满足有氧糖酵解的需要,大量葡萄糖通过无氧酵解途径供能,造成无氧酵解产物乳酸的大量积累,引发一系列生化反应,是造成运动疲劳的重要原因,乳酸脱氢酶可以加速肌肉中过多乳酸的清除代谢,延缓疲劳的发生^[10]。本研究发现,罗汉果皂苷能显著降低小鼠运动后的乳酸堆积,并增强乳酸脱氢酶活力,加速运动后乳酸的代谢,这可能是其产生抗疲劳作用的原因之一。机体运动主要依靠糖酵解供能,当肌糖原消耗的同时,肝糖原储备量也降低,因此肝糖原含量是衡量抗疲劳能力的重要标志^[11]。大量运动使正常的能量代谢平衡受到破坏,机体不能通过糖或脂肪分解获得足够的能量时,就会增加蛋白质和氨基酸的分解代谢用以供能,造成蛋白质的代谢产物尿素含量增加^[12]。本研究中罗汉果皂苷能显著增加小鼠肝脏和肌肉的糖原储备,并减少运动后尿素氮的生成,提示罗汉果皂苷能通过提高机体糖原储备,增加糖原供能,延缓运动疲劳的发生。

罗汉果皂苷具有显著的增强抗疲劳和耐缺氧能力的作用,增加机体糖原储备,加速乳酸代谢可能是其发挥抗疲劳作用的机制之一。

[参考文献]

- [1] 肖刚,王勤. 罗汉果甜苷对小鼠实验性肝损伤保护作用的研究[J]. 中国药房,2008,9(3):163.
- [2] 陈瑶,贾恩礼. 罗汉果化学成分和药理作用的研究进展[J]. 解放军药理学学报,2011,27(2):171.
- [3] 郑楚,唐金良,杨冬业,等. 罗汉果总黄酮对实验性糖尿病大鼠的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22):194.
- [4] 陈丽艳,金爽,张迎,等. 猴头菌发酵炮制中药刺五加对小鼠抗疲劳作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志. 2011,17(4):103.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2006:717.
- [6] 王永新,詹皓,魏日胞,等. 复方红景天抗缺氧作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):152.
- [7] 戚向阳,单复锋,宋云飞,等. 罗汉果皂甙清除自由基及抗脂质过氧化作用的研究[J]. 中国农业科学,2006,39(2):382.
- [8] Nikolaidis M G, Jamurtas A Z, Paschalis V, et al. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress; magnitude and time-course considerations [J]. Sports Med, 2008, 38(7): 579.
- [9] 姚绩伟,熊巨良,申伟华,等. 不同剂量罗汉果提取液对游泳训练小鼠耐缺氧与耐高温及运动能力的影响[J]. 吉林体育学院学报,2007,23(2):64.
- [10] Wang L, Zhang H L, Lu R, et al. The decapeptide CMS001 enhances swimming endurance in mice [J]. Peptides, 2008, 29(7): 1176.
- [11] Yu B, Lu Z X, Bie X M, et al. Scavenging and anti-fatigue activity of fermented defatted soybean peptides [J]. EFRT and Technology, 2008, 226(3): 415.
- [12] 施溯筠,李秀国. 榆黄蘑饮料对小鼠抗疲劳、耐缺氧和抗氧化作用的影响[J]. 时珍国医国药,2010,21(7):1806.

[责任编辑 李玉洁]