

桑葚多糖抗疲劳作用及其机制

王忠¹, 厉彦翔², 骆新^{2*}

(1. 新疆医科大学医学实验动物中心, 乌鲁木齐 830011;
2. 新疆医科大学药学院药理教研室, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的: 探讨桑葚多糖抗疲劳作用及其机制。方法: 雄性 SPF 级昆明种小鼠 224 只, 随机分为 4 批, 每批 56 只, 分别进行负重游泳、血清尿胆素测定、血乳酸含量测定和肝糖原含量测定。每批动物再随机分为正常对照组、桑葚多糖高、中、低剂量组(900, 300, 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 连续 ig 35 d 后, 分别测定游泳时间、血清尿胆素含量、血乳酸含量和肝糖原含量。结果: 桑葚多糖高剂量组小鼠游泳时间(31.3 ± 15.13) min 较正常对照组(7.15 ± 2.91) min 明显延长; 桑葚多糖高剂量组肝糖原含量(26.23 ± 6.08) mg·g⁻¹ 较正常对照组(18.75 ± 3.12) mg·g⁻¹ 明显增加, 血清尿素氮含量(9.66 ± 1.35) mmol·L⁻¹ 较正常对照组(12.07 ± 1.64) mmol·L⁻¹ 明显减少($P < 0.05$)。结论: 桑葚多糖具有抗疲劳作用。

[关键词] 桑葚多糖; 抗疲劳; 机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0234-03

Anti-fatigue Effect and Mechanism of Mulberry Amylose Extracts in Mice

WANG Zhong¹, LI Yan-xiang², LUO Xin^{2*}

(1. Medical Laboratory Animal Center of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;
2. College of Pharmacy of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the anti-fatigue effect and mechanism of polysaccharides from mulberry amylose (MA). **Method:** A total of 224 Kunming mice were randomly divided into 4 batches, each of which consisted of 4 groups: MA groups at the dosages of low (100 mg·kg⁻¹), middle (300 mg·kg⁻¹) and high (900 mg·kg⁻¹), and the control group. Each mouse was administered once a day for 35 days. After the end of the administration, all the mice were evaluated for their weight-loaded swimming duration and the contents of hepatic glycogen, blood urea nitrogen (BUN) and blood lactic acid. **Result:** MA at the high dosages could prolong weight-loaded swimming duration (31.3 ± 15.13) min, compared with (7.15 ± 2.91) min. In addition, an increase of hepatic glycogen (26.23 ± 6.08) mg·g⁻¹, compared with (18.75 ± 3.12) mg·g⁻¹ and a decline of BUN (9.66 ± 1.35) mmol·L⁻¹, compared with (12.07 ± 1.64) mmol·L⁻¹ were observed in mince

[收稿日期] 20111108(013)

[基金项目] 新疆医科大学校企联合项目

[第一作者] 王忠, 实验师, 从事动物营养与毒理研究

[通讯作者] * 骆新, 硕士, 讲师, 从事心血管药理和新药研发, E-mail: luox8093@gmail.com

[7] 马宏达, 郭涛, 何进. 夏天无提取物中原阿片碱和延胡索乙素的大鼠肠吸收特征[J]. 医药导报, 2011, 30(9): 1125.
[8] 徐发红, 罗跃华, 陈伟康, 等. HPLC 法同时测定夏天无注射液 3 个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(9): 1494.
[9] 桂婵, 吴安明, 何雁, 等. 夏天无提取工艺优化[J]. 中

国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 5.
[10] 杨丹莉, 黄燮南, 孙安盛, 等. RP-HPLC 法测定大鼠血浆的普鲁托品浓度及其药代动力学研究[J]. 药学学报, 2001, 36(10): 790.
[11] 赖珺, 廖正根, 杨明福, 等. 生物利用度的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 228.

[责任编辑 聂淑琴]

administered MA at the high dosages. **Conclusion:** MA could alleviate physical fatigue.

[**Key words**] mulberry amylose; anti-fatigue effect; mechanism

桑葚(mulberry)又名桑枣、桑果、桑实、葚子、乌葚等,为多年生桑科桑树(*Morus alba* L.)的成熟果穗^[1]。桑葚的营养丰富,含有人体所必需的多种营养成分,如维生素、铁、钙等矿物元素及人体必需的18种氨基酸和微量元素等,并含有果胶、无机盐类和紫红色色素等。中医认为,桑葚味甘酸,性寒,具有补肝益肾、养血生津、滋阴补血、润肠通便,生津止渴等功效^[2]。

现代研究认为,桑葚具有调节免疫、降血糖、降脂、抗衰老、护肝等作用^[3]。其主要活性成分为桑葚多糖(mulberry amylose, MA),已有报道桑葚多糖具有抗氧化作用^[4]和降糖作用^[5]的研究。现代医学对桑葚进行药理、药效毒理测试的结果也表明,桑葚能提高动物体内酶的活性,抑制有害物质的生成,增强抗寒、耐劳能力,延缓细胞衰老,防止动脉硬化,以及提高肌体免疫等功能。

目前国内外对桑葚的研究主要是在营养成分的提取、食品加工工艺和简单理化性质测定上,尚未见桑葚多糖抗疲劳研究的相关报道。本研究就桑葚多糖的抗疲劳作用进行初步研究,旨在为开发利用桑葚资源及其保健品、药品的研究提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性昆明种小鼠300只,18~22g,由新疆医科大学医学实验动物中心提供,动物生产许可证号SCXK(新)2003-0001,动物实验许可证号SYXK(新)2003-0001。

1.2 药物 桑葚,2011年6月采购于新疆吐鲁番农贸市场的新鲜果实,由新疆医科大学中医学院实验中心田树革教授鉴定为桑葚*Morus alba* L.的果穗。

1.3 试剂 葡萄糖对照品,中国药品生物制品检定所;血乳酸试剂盒、血清尿胆素试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器 Olympus-Au 400全自动生化仪(日本Olympus公司),FSH-2A可调高速匀浆机(金坛市医疗仪器厂),游泳箱(50 cm×50 cm×40 cm)定制,UV-250IPC型双光束紫外分光光度计(日本岛津公司)。

2 方法

2.1 MA的制备和含量测定 桑葚多糖的提取工艺参照文献[6],石油醚回流脱脂后以双蒸水100℃连续提取3次,每次1h。浓缩、醇沉,双蒸水溶解

后以3%三氯醋酸去蛋白得粗多糖。以葡萄糖为对照品采用苯酚-硫酸法测定MA含量,测得粗多糖含量为48.7%。

2.2 动物分组及给药 小鼠适应饲养3d后进行游泳筛选试验并从中选取出224只,随机分为4批,每批56只,分别进行负重游泳、血清尿胆素测定、血乳酸含量测定和肝糖原含量测定试验。每批动物再随机分为4组,每组14只,即正常对照组、MA高、中、低剂量组(900,300,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。正常对照组ig蒸馏水,其余各组按照设定剂量ig MA,连续35d。试验过程中动物在SPF环境下自由饮食饮水,每天观察小鼠生长状况。

2.3 指标检测

2.3.1 游泳时间的测定 小鼠末次ig给药30min后,每只小鼠尾部负重5%体重的铅皮,置于水温在(25±0.5)℃,水深为35cm的游泳箱内负重游泳。以小鼠下水开始至沉入水底10s不浮出水面的时间定为小鼠游泳时间,记录各组小鼠游泳时间^[7-8]。

2.3.2 血清尿素氮的测定 小鼠末次给药30min后,将小鼠置于水温为30℃,水深为35cm的游泳箱内负重游泳90min,待小鼠休息60min后摘眼球取血,2500 r·min⁻¹离心15min分离血清,采用全自动生化仪测定血清中尿素氮的含量。

2.3.3 血乳酸的测定 小鼠末次给药30min后将小鼠不负重置于水温为30℃,水深为35cm的游泳箱内游泳30min;休息20min后摘眼球取血,2500 r·min⁻¹离心15min分离血清,采用分光光度计法测定血乳酸含量。

2.3.4 肝糖原的测定 小鼠末次给药30min后,不负重游泳40min,立即脱颈椎处死小鼠取肝脏100mg,加入8mL 5%三氯醋酸(TCA)匀浆1min,将匀浆液倒入离心管,以3000 r·min⁻¹离心15min,取上清液采用蒽酮法测定肝糖原含量。

2.4 统计学处理 采用SPSS 18.0(PASW)统计软件进行数据的处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间符合正态分布的用单因素方差分析;不满足正态分布的资料数据采用秩和检验。 $P=0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对体重增长的影响 各剂量ig MA小鼠始末

体重增长与正常对照组小鼠始末体重增长无显著差异。

3.2 对小鼠负重游泳时间、血清尿胆素、血乳酸、肝糖原含量的影响 MA 高剂量组游泳时间与正常对照组相比差异有统计学意义;MA 高剂量组血

清尿素氮含量与正常对照组相比差异有统计学意义;MA 高剂量组血乳酸含量与正常对照组相比有所减少,但差异无统计学意义;MA 高剂量组肝糖原含量与正常对照组相比差异有统计学意义。见表 1。

表 1 各组小鼠游泳时间、血清尿素氮、血乳酸、肝糖原含量的比较($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	负重游泳时间/min	血清尿素氮/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	血乳酸/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	肝糖原/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
正常对照	-	7.15 ± 2.91	12.07 ± 1.64	11.26 ± 1.72	18.75 ± 3.12
MA	100	8.26 ± 5.12	11.23 ± 1.26	10.21 ± 2.64	20.61 ± 4.14
	300	12.12 ± 9.63	10.50 ± 1.43	10.11 ± 2.37	21.76 ± 4.89
	900	31.3 ± 15.13 ¹⁾	9.66 ± 1.35 ¹⁾	9.35 ± 3.15	26.23 ± 6.08 ¹⁾

注:与对照组相比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

国内市场调查表明,新疆桑椹资源丰富,但现阶段桑葚的生产能力很小,产品种类多为初级加工,多见于饮料、果汁、果酱等产品的生产和销售,市场发展极不成熟。本实验的研究对于新疆桑葚资源的综合利用开发将具有深远的意义。

本实验采用水提醇沉法提取多糖操作简便易行,试剂便宜无害,所得到的多糖含量也较高,不失为一种可行的提取方法^[6,9]。本实验同时采用运动耐力实验(游泳时间)和检测生化指标两种手段评价体力疲劳。运动耐力实验是反映抗疲劳能力最直接的表现,通过测定游泳时间的长短可以反应运动疲劳的程度。血乳酸、血清尿素氮、肝糖原或肌糖原等是反应疲劳程度最敏感的生化指标,往往可以初步阐释保健品抗疲劳作用的机制。本实验结果显示,桑葚多糖有促进糖原储备或减少糖原消耗的作用。运动后血清尿素氮的多少,提示机体利用蛋白质供能的多少,间接反映机体的疲劳程度。血乳酸可从肌肉运动方面反应疲劳程度^[10]。本实验结果间接反映了桑葚多糖具有抗疲劳作用。本实验过程中对小鼠体重进行了定期检测,每 3 d 称量体重,终末体重结果显示,桑葚多糖各剂量组对小鼠体重均无影响。

通过小鼠负重游泳实验、肝糖原含量测定、血清尿素氮和血乳酸含量测定,桑葚多糖可延长小鼠负重游泳时间,降低游泳后血清尿素氮水平,升高小鼠

肝糖原储备,具有一定的抗疲劳作用。

[参考文献]

- [1] 陈小全,周鲁. 超声波作用下桑葚红色素的提取及稳定性实验[J]. 西南民族大学学报:自然科学版, 2004,4(30):458.
- [2] 张晓云,杨小兰. 桑葚果汁延缓衰老作用的研究[J]. 中华预防医药杂志,1998,32(6):395.
- [3] 王传荣. 桑葚保健鲜啤酒的开发与研究[J]. 中国酿造,2008(13):88.
- [4] 李颖,李庆典. 桑葚多糖抗氧化作用的研究[J]. 中国酿造,2010(4):59.
- [5] 李先佳,任丽平,王家国. 桑叶黄酮和多糖对 II 型糖尿病大鼠生化指标的影响[J]. 中国老年学杂志, 2009,29(19):2536.
- [6] 赵喜兰. 桑葚多糖提取、纯化分离及其降糖作用的研究[J]. 食品工业科技,2011,32(2):259.
- [7] 姜国贤,杨银盛,陈霞云,等. 丹参抗衰老作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(12):82.
- [8] 丁玉松,王忠,马儒林,等. 沙枣多糖抗疲劳作用及其机制的研究[J]. 食品科学,2010,31(11):255.
- [9] 龚千锋,余香,钟凌云,等. 大蓟生品及炭品中多糖不同提取方法的比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2011, 17(22):94.
- [10] 张桂英,赵海军,信振江,等. 枫糖对小鼠抗运动疲劳能力的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版,2008, 29(6):644.

[责任编辑 聂淑琴]