

桔梗多糖抗疲劳活性研究

杨晓杰^{1*}, 于侃超¹, 李娜¹, 王海艳¹, 王艳²

¹ 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 齐齐哈尔 161006; ² 齐齐哈尔高等师范专科学校, 齐齐哈尔 161000

摘要: 利用水提醇沉法提取桔梗多糖, 以西洋参为阳性对照, 蒸馏水为空白对照, 分析了桔梗多糖对小鼠抗疲劳作用效果及有效剂量。三种浓度的桔梗多糖(0.2、0.5、0.8 mg/mL)作用于小鼠, 21 d后测定小鼠负重游泳时间、肝糖原含量、血尿素氮和血乳酸含量。结果表明: 小鼠负重游泳时间明显延长, 血尿素氮显著下降, 肝糖原的含量明显升高($P < 0.01$), 血乳酸含量下降。桔梗多糖的高、中、低浓度组能有效提高小鼠的抗疲劳能力, 其中多糖0.8 mg/mL浓度组效果最好。

关键词: 桔梗多糖; 小鼠; 抗疲劳

中图分类号: Q949.91

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.03.018

Anti-fatigue Activity of Polysaccharide from *Platycodon grandiflorum*

YANG Xiao-jie^{1*}, YU Kan-chao¹, LI Na¹, WANG Hai-yan¹, WANG Yan²

¹ College of Life Science and Agriculture and Forestry Qiqihar University,

Qiqihar 161006, China; ² Qiqihar Teachers College, Qiqihar 161000, China

Abstract: In this study, the water-extraction and ethanol precipitation was used to extract polysaccharides from *Platycodon grandiflorum*. The anti-fatigue effects and effective doses of *P. grandiflorum* polysaccharide on mice were analyzed using *Panax quinquefolius* as positive control, distilled water as blank control. Three concentrations of *P. grandiflorum* polysaccharide (0.2 mg/mL, 0.5 mg/mL and 0.8 mg/mL) were applied to mice. After 21 days' treatment, the loaded swimming time, blood urea nitrogen, hepatic glycogen and blood lactate of mice were determined. The results indicated that *P. grandiflorum* polysaccharide obviously prolonged the loaded swimming time, reduced blood urea nitrogen and blood lactate, increased hepatic glycogen ($P < 0.01$) of mice. The 3 concentration groups of *P. grandiflorum* polysaccharide can improve the anti-fatigue ability of mice effectively, and the 0.8 mg/mL of *P. grandiflorum* polysaccharide group showed the highest activity.

Key words: *Platycodon grandiflorum* polysaccharide; mice; anti-fatigue

桔梗(*Platycodon grandiflorum*)为桔梗科多年生草本植物, 药用部位为主根。桔梗具有镇咳、祛痰、抗炎、抗溃疡、降血压、扩张血管、解热镇痛、镇静、降血糖、抗胆碱、促进胆酸分泌、抗过敏及增强人体免疫力等多种药理作用^[1]。除用于临床配方外, 也是生产中成药的原料和传统的出口作物, 大量出口到韩国、日本等国家。在我国多数地区以及朝鲜半岛、日本和西伯利亚东部均分布广泛, 其价值已在多方面得以开发利用。桔梗作为药食兼用的植物, 对其多糖的研究见于提取、含量测定等, 而对其多糖的生物活性研究报道较少^[2]。本实验就桔梗多糖的抗

疲劳活性进行了比较分析, 以期对桔梗多糖资源的开发利用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用的桔梗购自内蒙古自治区赤峰市。新鲜桔梗根清洗去泥, 手工撕去皮, 蒸馏水清洗、烘干、粉碎等步骤制得桔梗根的粉末以备。

1.2 多糖的提取

将桔梗根粉末若干以5 g/包装于索氏提取器中用石油醚脱脂, 晾干, 加入20倍蒸馏水, 在40℃热水浸提4 h, 抽滤; 加入4倍体积无水乙醇, 4℃过夜沉淀, 4000 rpm离心10 min, 冷冻干燥, 三氯乙酸法脱蛋白得桔梗多糖^[3]。

1.3 实验动物

昆明种小鼠, 雄性, 7~8 周龄, 由齐齐哈尔医学院动物饲养中心提供(合格证 No₀002334)。

1.4 实验方法

1.4.1 灌胃动物模型

取状态良好的健康小鼠随机分 5 组, 每组 8 只, 分为 0.2、0.5、0.8 mg/mL 三个浓度多糖组、0.5 mg/mL 西洋参阳性对照组、蒸馏水的空白对照组。采用灌胃器直接灌胃法, 每天以 20 mL/kg 的剂量给小鼠灌入不同浓度的多糖溶液及西洋参和蒸馏水, 每天一次, 连续喂养 20 d, 第 21 d 进行各项抗疲劳指标测定。

1.4.2 运动模型

末次给予受试样品 30 min 后, 按小鼠体重 5% 负重, 将其放入水温 25 ± 1 °C 的水槽中使其游泳, 开始计时, 直至小鼠沉入水底 8 s 不再浮起, 为力竭游泳结束, 记录游泳时间。

1.4.3 测试指标与方法

血清尿素氮的测定: 末次给予小鼠受试样品 30 min 后, 在温度为 25 ± 1 °C 的水中不负重游泳 90 min, 休息 60 min 后, 眼球采血, 按文献^[2]方法测定血清尿素氮含量。

肝糖原的测定: 肝糖原的提取: 末次给小鼠受试剂 30 min 后, 立刻脱颈处死, 取肝脏, 迅速以滤纸吸去附着的血液。称取约 1 g, 置乳钵中, 加洗净细砂少许及 10% 三氯乙酸 1 mL 研磨。再加 5% 三氯乙酸 2 mL 继续研磨, 至肝脏组织已经充分磨成肉糜状为止。然后以 2500 rpm 离心 10 min。将上清液转入另一离心管并量取体积, 加入同体积的 95% 乙醇, 混合后, 静置 10 min。此时糖原成絮状沉淀析出。沉淀溶液以 2500 rpm 离心 10 min。弃去上清液, 并将离心管倒置于滤纸上 2 min。沉淀内加入蒸馏水 1 mL, 用玻璃棒搅拌沉淀至溶解。按文献^[2]方法测定肝糖原含量, 每组重复 3 次, 取平均值。

血乳酸含量测定: 末次给药 30 min 后, 在温度为 30 °C 的水中不负重游泳 10 min。分别在游泳前、游泳后 0 min、游泳后休息 20 min 时, 断尾采血 0.1 mL, 血凝固后 3000 rpm 离心 15 min, 取血清 20 μ L 进行血乳酸含量测定^[4]。

1.4.4 数据处理

所有数据均用 SPSS 17.0 软件进行处理, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm S$) 表示。

2 结果与分析

2.1 小鼠力竭游泳时间

各处理组小鼠的力竭游泳时间见表 1。

表 1 各实验组的力竭游泳时间 ($n=8, \bar{x} \pm S$)

Table 1 Exhausted swimming time of each experimental group ($n=8, \bar{x} \pm S$)

组别 Group	多糖浓度 Polysaccharide concentrations (mg/mL)	平均时间 Average time (min)
空白对照组 Blank control	0	50.0 \pm 5.5
西洋参对照组 <i>P. quinquefolius</i>	0.5	102.3 \pm 5.7
低剂量组 Low dose group	0.2	120.0 \pm 4.7 **
中剂量组 Middle dose group	0.5	125.0 \pm 10.0 **
高剂量组 High dose group	0.8	135.3 \pm 15.2 **

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with blank control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

从表 1 可见, 饲喂桔梗多糖的三组小鼠均能明显提高游泳时间, 三个剂量组与空白组比较均差异极显著 ($P < 0.01$), 显示在本实验范围内小鼠力竭游泳时间与多糖浓度成正相关; 三个剂量组的游泳时间均长于西洋参对照组, 表明桔梗根多糖有明显的提高小鼠抗疲劳的能力, 且比同浓度的西洋参抗疲劳能力强。

2.2 血清尿素氮

小鼠血清尿素氮的含量测定结果见表 2。

表 2 各实验组的血清尿素氮含量 ($n=8, \bar{x} \pm S$)

Table 2 Concentration of serum urea nitrogen of each experimental group ($n=8, \bar{x} \pm S$)

组别 Group	多糖浓度 Polysaccharide concentrations (mg/mL)	血清尿素氮 Serum urea nitrogen (mg/dL)
空白对照组 Control	0	61.08 \pm 5.24
西洋参对照组 <i>P. quinquefolius</i>	0.5	46.25 \pm 4.03
低剂量组 Low dose group	0.2	47.99 \pm 5.96 **
中剂量组 Middle dose group	0.5	30.54 \pm 4.89 **
高剂量组 High dose group	0.8	22.25 \pm 4.02 **

注: 与空白对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with blank control, ** $P < 0.01$.

从表 2 可见, 三个桔梗多糖剂量组中血清尿素氮含量均低于空白组, 达到差异极显著 ($P < 0.01$), 并显现出量效关系, 其中中剂量组和高剂量组血清尿素氮含量低于西洋参对照组, 表明桔梗多糖能够抑制或减少疲劳小鼠血清尿素氮的产生, 提高小鼠的抗疲劳能力。

2.3 肝糖原含量

实验测得小鼠肝糖原含量见表3。

表3 各实验组的肝糖原含量($n=8, \bar{x} \pm S$)

Table 3 Concentration of hepatic glycogen of each experimental group($n=8, \bar{x} \pm S$)

组别 Group	多糖浓度 Polysaccharide concentrations (mg/mL)	肝糖原含量 Hepatic glycogen (mg/100g)
空白对照组 Blank control	0	220.9 ± 21.2
西洋参对照组 <i>P. quinquefolius</i>	0.5	253.6 ± 13.2
低剂量组 Low dose group	0.2	265.9 ± 24.5 *
中剂量组 Middle dose group	0.5	294.5 ± 23.9 **
高剂量组 High dose group	0.8	327.3 ± 27.2 **

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表3显示,三个桔梗多糖剂量组中肝糖原含量均明显高于空白组,低剂量组差异显著($P < 0.05$),中剂量组与高剂量组差异极显著($P < 0.01$),各剂量组中的肝糖原含量均高于西洋参对照组,表明桔梗多糖能够促进小鼠肝糖原的存储。

2.4 血乳酸含量

各实验组血乳酸含量测定结果见表4。

表4 各实验组的血乳酸含量($n=8, \bar{x} \pm S$)

Table 4 Content of blood lactate of each experimental group($n=8, \bar{x} \pm S$)

组别 Group	多糖浓度 Polysaccharide concentrations (mg/mL)	血乳酸含量 Blood lactate (mg/100mL)
空白对照组 Blank control	0	8.4 ± 0.3
西洋参对照组 <i>P. quinquefolius</i>	0.5	5.2 ± 0.2
低剂量组 Low dose group	0.2	8.0 ± 0.4
中剂量组 Middle dose group	0.5	7.6 ± 0.4
高剂量组 High dose group	0.8	4.5 ± 0.3

从表4可以看出,不同浓度的桔梗多糖饲喂的小鼠游泳疲劳后,血液中乳酸含量均少于空白组,高剂量组中的血乳酸含量也低于西洋参对照组,表明此浓度下的桔梗多糖能够明显降低血乳酸的生成。

3 讨论

疲劳是极其复杂的生理状态,能源物质的消耗、代谢物质的堆积是产生疲劳的重要原因。疲劳最直接和客观的表现是运动耐力下降,因此,运动耐力的提高是抗疲劳能力增加最有力的宏观表现。而力竭

游泳时间是反映运动耐力的重要指标,游泳时间的长短可以反映动物运动疲劳的程度^[5-7]。本实验发现桔梗多糖3个受测试剂量组与对照组比较,均能极显著地延长负重小鼠的游泳时间,分别是空白对照组的2.0、2.5和2.7倍,且都高于阳性对照组。

尿素氮是体内氨基酸分解代谢的最终产物之一,机体血清尿素氮含量随运动负荷的增加而增加,机体对负荷的适应能力越差,血清尿素氮的增加就越明显。3个受测试剂量组的小鼠血清尿素氮含量均极显著低于对照组,分别是空白对照组的78.42%、50%和36.42%;其中中剂量组与高剂量组血清尿素氮含量均低于阳性对照组,表明桔梗多糖能有效地减少疲劳小鼠血清尿素氮产生。

肝糖原是血糖的贮存库,在机体血糖降低时可迅速分解释放入血,以维持血糖水平的稳定。糖原的储存量可直接影响机体的运动能力。机体剧烈运动时,在体内肌糖原消耗的同时,肝糖原储备量也降低。因此,体内肝糖原储备量的高低是衡量机体抗疲劳能力强弱的重要指标。3个受测试剂量组小鼠的肝糖原含量均高于对照组,分别是空白对照组的1.20倍、1.33倍和1.48倍;中、高剂量组与对照组比较差异极显著,且3个剂量组肝糖原含量均高于阳性对照组,表明桔梗多糖能够通过增加能量物质的储备,为机体提供更多的能量来达到抗疲劳的作用。

乳酸是机体在激烈运动初期通过葡萄糖的无氧糖酵解途径获能的代谢终产物。乳酸在肌肉和血液中的堆积是运动性疲劳产生的主要原因之一,乳酸的消除有利于疲劳的恢复,提高小鼠的运动能力^[8]。3个受测试剂量组小鼠的血乳酸含量均低于对照组,分别是空白对照组的95.23%、90.47%和53.57%;高剂量组略低于空白对照组。

综上所述,通过对灌胃小鼠的持续浮水时间、血清尿素氮含量、肝糖原含量和血乳酸含量差异,发现桔梗多糖对小鼠有明显的抗疲劳作用,在本实验条件下,抗疲劳作用与多糖的浓度成正相关,以多糖浓度为0.8 mg/mL为最佳。

参考文献

- 1 Qin Y(秦阳), Hou JP(侯建平), Meng JG(孟建国), et al. Pharmacological research progress of *Platycodon grandiflorum*. *Mod Tradit Chin Med* (现代中医药), 2009, 29(6): 74-75. (下转第479页)