

玉竹多糖对小鼠的抗疲劳作用

牛友芽^{1,2}

¹湖南医药学院细胞与遗传学教研室;²湖南医药学院 侗医药研究湖南省重点实验室,怀化 418008

摘要:为了探讨玉竹多糖(POP)的抗氧化和抗疲劳的效果,我们通过水煮提取玉竹多糖,利用乙醇沉淀、丙酮洗脱以及三氯乙酸沉淀蛋白得到玉竹多糖,建立小鼠的负重游泳和自由游泳模型,灌胃不同剂量的玉竹多糖溶液,测定小鼠负重游泳时间和30分钟自由游泳后乳酸脱氢酶(LDH),乳酸(LD),磷酸肌酸激酶(CK),血尿素氮(BUN),超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)等生化指标。POP喂养小鼠游泳实验结果发现,POP能明显延长小鼠负重游泳时间,明显提高喂养小鼠血清血糖、肌糖原、SOD、CAT和GSH的含量,明显降低LDH,LD,CK,BUN以及MDA的含量。

关键词:玉竹;多糖;抗疲劳

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.7.018

Effects of *Polygonatum odoratum* Polysaccharide on Anti-Fatigue in Mice

NIU You-ya^{1,2}

¹Department of Cell Biology and Genetics, Hunan University of Medicine;

²Hunan Provincial Key Laboratory of Dong Medicine, Hunan University of Medicine, Huaihua 418008, China

Abstract:To investigate the antioxidant and antifatigue effects of *Polygonatum odoratum* polysaccharide (POP). The POP was extracted by water extraction, alcohol precipitation, Acetone elution and trichloroacetic acid precipitation. A weight loaded swimming model and a free swimming model of mice were established. Meanwhile the mice were given different doses of POP. After loaded-swimming and free swimming for 30 minutes, Lactate dehydrogenase (LDH), lactic acid (LD), creatine phosphate kinase (CK), blood urea nitrogen (BUN), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), (glutathione) GSH and malondialdehyde (MDA) were measured. The results indicated that POP can significantly prolong the loaded swimming time, increase the contents of blood glucose, muscle glucose, SOD, CAT and GSH i, and decrease the levels of LDH, LD, CK, BUN and MDA.

Key words: *Polygonatum odoratum*; polysaccharide; anti-fatigue

疲劳综合征是一种主观不适感觉,但客观上会在同等条件下,失去其完成原来所从事的正常活动或工作能力^[1]。很多疾病都可引起疲劳,患病后感觉浑身乏力的情况很常见,不同疾病引起不同程度的疲劳,某些疾病表现更明显有时可作为就诊的首发症状。例如老化,晚期癌症,抑郁症,艾滋病(AIDS),多发性硬化,心脏病,糖尿病和帕金森病等。疲劳已经成为全世界影响健康的亚健康疾病,但是这部分人很少甚至没有得到有效缓减和治疗疲劳的医疗服务^[2]。

现代人口的另一个疲劳源是运动,越来越多人

们通过定期锻炼来增强他们的健康,但是过度锻炼也会导致疲劳,甚至损害身体。因此,在过去几十年里,健康学者和运动生理学家一直在寻找天然活性化合物,既可以提高运动能力,还可以减缓疲劳,并加速体力恢复。然而,有研究报导许多活性物质解决疲劳具有副作用。例如,红景天提取物,其主要成分为毛柳苷,显示出较强的抗疲劳作用^[3,4],但如果过量的红景天提取物存在低血糖患者中,这会降低疲劳恢复从而产生副作用。因此,安全有效的抗疲劳天然产物仍然是需要的。

玉竹为百合科(Liliaceae)黄精属(*Polygonatum*)玉竹(*Polygonatum odoratum* Mill.)的干燥根茎,又名尾参,我国大部分地区(陕西、宁夏、湖北、湖南、浙江、安徽、广东等省)都有正品玉竹生长^[5]。多糖在玉竹中含量最高,可能是药理作用的主要有效成

收稿日期:2017-12-06 接受日期:2018-04-04

基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(2017JJ2198);湖南省教育厅重点项目(17A153)

*通信作者 Tel:86-745-2382903; E-mail:niuyouya@sina.com

分之一^[6],已有大量文献报道多糖具有抗疲劳^[7,8]、抗肿瘤^[9]和调节免疫功能^[10]等药理作用。李钟等^[11]从玉竹粗多糖中分离纯化了1种酸性多糖,其主要含有葡萄糖、甘露糖、半乳糖、半乳糖醛酸4种单糖。另外,黄酮类化合物被认为是另一类玉竹的主要有效成分^[12]。谢建军等^[13]研究表明玉竹多糖具有降血糖作用,通过灌胃明显减轻四氧嘧啶对糖尿病大鼠胰岛 β 细胞的损伤,对胰岛 β 细胞有一定的保护作用。徐大量等^[14]采用 DPPH 法和总还原能力测定法考察玉竹水提液的体外抗氧化能力,实验结果表明玉竹水提液体外具有与维生素 C 和芦丁相似的抗氧化能力。

因此,在本研究中,使用 KM 小鼠重复评价 POP 的抗疲劳活性重量负荷耐力游泳试验。测定血清中乳酸脱氢酶(LDH),乳酸(LD),磷酸肌酸激酶(CK),血尿素氮(BUN),肝匀浆中的超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)以及肝脏和腓肠肌中的糖原含量。

1 材料、试剂和仪器

1.1 植物材料

玉竹(*Polygonatum odoratum* (Mill.))购自湖南溆浦君健中药材专业合作社,经怀化学院曾汉元教授鉴定为百合科黄精属多年生草本植物,凭证标本(hhxy2014-235)保存在怀化学院侗族植物标本馆内。

1.2 实验动物

近交系雄性(6~8周龄,22~2g)KM小鼠,购置于中南大学湘雅医学院(合格证号:湘检证字2008-0002)。动物是随意提供标准颗粒饮食和水,并保持在控制的条件下温度(23 ± 3 °C)和湿度(相对湿度为50%),12小时光/暗循环。在实验30天期间每10天称量小鼠的体重并记录。

1.3 试剂和仪器

灵芝西洋参口服液购自湖南怀仁大药房,乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒、乳酸(LD)测定试剂盒、尿氮(BUN)测定试剂盒、磷酸肌酸激酶(CK)测定试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)测定试剂盒、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒、谷胱甘肽酶(GSH)测定试剂盒和肝糖原/肌糖原测定试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。Beckman DU800型紫外/可见分光光度计(美国Beckman公司)。

2 实验方法

2.1 玉竹多糖的制备

称取干燥玉竹10kg,粉碎,过60目筛,按照固液比为1:20加蒸馏水于80°C提取60min,滤液减压蒸馏浓缩,滤渣同样办法提取2次,合并浓缩液,加入5倍体积无水乙醇,冷藏静置12h后,离心,沉淀物用丙酮洗涤,真空干燥获得玉竹粗多糖,粗多糖得率为12.28%。对粗多糖重新用蒸馏水溶解后加入15%的三氯乙酸进行蛋白质的沉淀,过滤后对上清液进行浓缩,采用硫酸-萘酚法测定玉竹多糖含量为 $68.56 \pm 2.54\%$ 。

2.2 小鼠负重游泳实验

KM小鼠训练习惯在第一周游泳两次(每次10分钟)。不能学会游泳的小鼠被筛选出来。训练的小鼠随机分成6组,每组10只小鼠。按表1进行给药。灌胃30天,每10天观察小鼠体重的变化。

表1 动物分组与给药

Table 1 Subgrouping and administration

组别 Group	处理 Administration
I	不接受任何治疗 No treatment
II	正常饲料+生理盐水 Fodder + Saline
III	灵芝西洋参口服液 Positive drug(5 mL/Kg)
IV	100 mg
V	200 mg
VI	400 mg

注:I-空白对照组;II-模型组;III-阳性对照组;IV,V,VI-实验组。

Note: I-Control group; II-Model group; III-Positive control group; IV, V, VI-Experimental group.

每隔10天给药后1h,将II-VI组KM小鼠放置在装有25°C的新鲜水的游泳池(50×50×40cm)30cm深,使小鼠脚不能触摸到底部。铅片(5%体重)装载在小鼠的尾根上。当小鼠未能在10秒内上升到水面呼吸时被评估为耗尽期。在试验结束时,将小鼠从水中取出,用纸巾干燥放回饲养笼中。最后一次负重游泳后,称量小鼠体重,麻醉摘除眼眶取血通过离心(3000rpm,10min,4°C)获得血清,并储存在-80°C中用于相关生化指标分析。迅速取心脏、肝脏、脾脏和肾脏用生理盐水冲洗后用纸巾吸干水分称重,并且相对于最终体重计算器官指数。

2.3 小鼠自由游泳实验

另取训练KM小鼠60只,随即分为6组,每组10只小鼠。按表1进行给药,灌胃30天后,最后一次口服给药后1h,迫使小鼠在游泳池中游泳30分

钟结束时,取出小鼠,用纸巾干燥,麻醉后,摘除眼球收集血液4℃以3 000 rpm离心10 min制备血清。按照试剂盒说明进行测定LDH、CK、Lac、BUN、SOD、MDA、CAT和GSH。

2.4 肝糖原和肌糖原的测定

收集血液后,立即解剖,取出小鼠的肝脏和腓肠肌肌肉,在液氮中冷冻,并保持在-80℃直到分析糖原浓度。糖原的浓度按照肝糖原/肌糖原测定试剂盒提供的说明书进行测定。大致测定过程如下:碱性溶液加入到肝脏和腓肠肌样品中,在100℃水解30 min。然后3 000 rpm离心10分钟。加0.5 mL蒸馏水1 mL的0.5%萘酮,将小瓶置于沸水浴中20分钟。通过分光光度计测定小瓶中溶液在620 nm

的吸光度。

2.5 统计分析

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,数据以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(OnewayANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 POP对KM小鼠体重的影响

表2显示,在试验期间,喂养灵芝西洋参口服液和玉竹不同剂量组的小鼠的体重都高于正常喂养的小鼠体重,尤其是玉竹多糖高剂量组小鼠体重在喂养20天和30天测定的时候呈现显著增加。

表2 POP对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm SD$)

Table 2 Effect of POP on the mice weight($\bar{x} \pm SD$)

组别 Group	剂量 Dose (kg)	给药后体重 The weight of mice after administration (g)			
		0 day	10 days	20 days	30 days
II	0	22.32 ± 1.08	27.45 ± 1.34	31.56 ± 2.08	34.37 ± 1.65
III	5 mL	22.47 ± 1.03	28.45 ± 1.45	34.43 ± 2.34	36.65 ± 1.54
IV	100 mg	22.24 ± 1.56	28.45 ± 1.65	33.45 ± 1.78	37.35 ± 1.91
V	200 mg	22.25 ± 1.32	31.34 ± 2.13	34.54 ± 1.65	38.75 ± 1.86
VI	400 mg	22.43 ± 1.14	31.45 ± 1.98	35.45 ± 2.03*	42.67 ± 1.97**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

Note: Compare with model groups,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$.

3.2 POP对KM小鼠负重游泳时间的影响

负重强迫游泳耐力试验是常用来评价药物或食物的抗疲劳作用的试验模型^[15,16]。平均持续时间长短证明抗疲劳程度。如所预期的,与正常饲养小鼠比较,灵芝西洋参口服液喂养组小鼠负重游泳在

第10天、20天、30天的时间分别为636.5 ± 81.08、756.3 ± 34.8和789.5 ± 67.3 s,呈显著差异($P < 0.001$),POP低中高不同剂量组游泳时间在第30天为687.4 ± 24.8、687.4 ± 24.8和814.4 ± 65.3 s,呈显著差异($P < 0.001$,见表3)。

表3 POP对KM小鼠负重游泳时间的影响

Table 3 Effect of POP on mice swimming time

组别 Group	剂量 Dose (kg)	负重游泳时间 Loaded swimming time after administration (s)		
		10 days	20 days	30 days
II	0	512.3 ± 76.5	498.7 ± 45.8	503.4 ± 65.3
III	5 mL	636.5 ± 81.08***	756.3 ± 34.8***	789.5 ± 67.3***
IV	100 mg	567.5 ± 32.6	623.3 ± 65.3**	687.4 ± 24.8***
V	200 mg	607.5 ± 64.7**	708.3 ± 46.6***	723.5 ± 64.3***
VI	400 mg	665.4 ± 46.5***	748.5 ± 45.7***	814.4 ± 65.3***

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

Note: Compare with model groups,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$.

3.3 POP对脏器指数的影响

进一步评价心脏、肝脏、脾脏和肾脏的器官指

数。模型组负重游泳试验后,心脏指数和肝脏指数与空白对照组无明显差异,脾脏指数和肾脏指数显

著低于空白对照组,西洋参口服液和不同剂量玉竹多糖喂养后没有显著改善了心脏和肝脏的器官指

数,但脾脏指数和肾脏指数明显高于模型组(见表4)。

表4 POP对脏器指数的影响
Table 4 Effect of POP on mice organ index

组别 Group	剂量 Dose (kg)	脏器指数 Organ index			
		心脏指数 Cardiac index	肝脏指数 Liver index	脾脏指数 Spleen index	肾脏指数 Kidney index
I	0	5.34 ± 0.34	22.43 ± 4.54	5.34 ± 0.14	6.88 ± 0.22
II	0	7.34 ± 0.54	30.54 ± 6.43	3.16 ± 0.17	3.98 ± 0.17
III	5 mL	5.76 ± 0.87	26.78 ± 4.56	5.14 ± 0.08***	6.58 ± 0.27***
IV	100 mg	6.67 ± 0.87	28.34 ± 6.43	3.56 ± 0.15***	4.56 ± 0.14***
V	200 mg	6.43 ± 0.45	26.45 ± 5.34	4.45 ± 0.17***	5.65 ± 0.23***
VI	400 mg	5.78 ± 0.67	24.65 ± 4.56	5.08 ± 0.26***	6.25 ± 0.45***

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

Note: Compare with model groups,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$.

3.4 POP对血清中LDH、LD、CK和BUN的影响

如表5所示,与空白对照组小鼠相比,游泳后,模型组小鼠血清中LDH、LD、CK和BUN的显著提高($P < 0.001$)。与模型组比较,喂养灵芝西洋参

口服液的阳性对照组能够显著降低他们的含量($P < 0.001$),而不同剂量组玉竹多糖喂养组能提高它们的含量,尤其是中高剂量组具有显著差异($P < 0.05$),并且呈剂量依赖性。

表5 POP对血清中LDH、LD、CK和BUN的影响
Table 5 Effect of POP on the contents of LDH,LD,CK and BUN

组别 Group	剂量 Dose (kg)	LD (mmol/L)	LDH (U/L)	CK (U/L)	BUN (mmol/L)
I	0	7.56 ± 1.23	845.65 ± 45.67	756.45 ± 32.45	5.85 ± 1.76
II	0	13.45 ± 2.32###	1354.45 ± 124.56###	1387.65 ± 87.65###	11.67 ± 1.87###
III	5 mL	8.67 ± 1.08***	954.56 ± 76.34***	876.65 ± 24.54***	6.23 ± 0.78***
IV	100 mg	11.34 ± 1.56	1214.45 ± 98.35	1168.65 ± 54.34*	10.21 ± 0.87
V	200 mg	9.76 ± 1.45*	1013.45 ± 97.34**	1065.45 ± 67.45**	8.56 ± 1.12**
VI	400 mg	8.78 ± 1.34***	925.34 ± 86.45***	806.34 ± 35.45***	7.12 ± 0.97***

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,### $P < 0.001$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

Note: compare with control,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,### $P < 0.001$;compare with model groups,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$.

3.5 POP对游泳小鼠体内抗氧化效果

为了评价POP对小鼠的抗氧化效果,对肝脏SOD、CAT、GSH活力及MDA含量进行了测定,测定结果见表6,模型组小鼠经30 min游泳后,与空白对照组小鼠比较,发现MDA的含量明显升高($P < 0.001$),而SOD、CAT和GSH的含量显著降低($P < 0.001$),但是通过用灵芝西洋参口服液和POP喂养后再进行游泳实验后与模型组比较后发现,灵芝西洋参口服液治疗组能够明显降低MDA的含量($P < 0.001$)和提高SOD、CAT和GSH的含量($P < 0.001$),POP喂养后均可以降低小鼠肝脏中的MDA的含量,其中中高剂量组具有明显效果($P < 0.01$),

同时均可明显提SOD、CAT和GSH的含量($P < 0.05$)。

3.6 POP对小鼠肝/肌糖原的影响

如表7所示,喂养灵芝西洋参口服液能显著提高小鼠肝糖原水平和肌糖原水平($P < 0.001$)。不同剂量POP喂养小鼠同样能提高小鼠肝糖原水平和肌糖原水平,并与剂量成正相关,中高剂量组提高效果显著($P < 0.01$)。

4 讨论

疲劳最直接、最客观的反映指标就是运动耐力,因游泳试验装置较为简单,操作容易,而且其结果能

表6 POP对小鼠体内抗氧化的影响

Table 6 Effect of POP on the antioxidant ability

组别 Group	剂量 Dose (kg)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	GSH (U/mL)	MDA (nmol/mL)
I	0	145.45 ± 4.65	86.45 ± 4.87	985.34 ± 21.45	3.58 ± 0.98
II	0	67.56 ± 8.52 ^{###}	38.65 ± 4.37 ^{###}	557.45 ± 30.45 ^{###}	6.45 ± 0.65 ^{###}
III	3mL	135.46 ± 6.87 ^{***}	80.54 ± 5.54 ^{***}	864.34 ± 19.65 ^{***}	4.42 ± 0.47 ^{***}
IV	200mg	109.45 ± 9.21 ^{**}	60.54 ± 6.29 [*]	615.65 ± 17.68 [*]	5.25 ± 0.65 [*]
V	400mg	119.45 ± 7.58 ^{**}	63.45 ± 3.46 ^{**}	734.45 ± 32.45 ^{**}	4.47 ± 0.31 ^{***}
VI	800mg	122.45 ± 4.75 ^{***}	75.57 ± 5.87 ^{***}	896.54 ± 22.67 ^{***}	4.15 ± 0.35 ^{***}

注:与空白组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$ 。

Note:compare with control,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$;compare with model groups,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$.

表7 POP对小鼠肝/肌糖原的影响

Table 7 Effect of POP on the contents of muscle glycogen and liver glycogen

处理 Group	剂量 Dose (kg)	肝糖原 Liver glycogen (mg/g)	肌糖原 Muscle glycogen (mg/g)
I	0	145.45 ± 4.65	86.45 ± 4.87
II	0	67.56 ± 8.52 ^{###}	38.65 ± 4.37 ^{###}
III	5 mL	135.46 ± 6.87 ^{***}	66.54 ± 5.54 ^{***}
IV	100 mg	89.45 ± 9.21 [*]	42.54 ± 6.29
V	200 mg	108.45 ± 7.58 ^{**}	63.45 ± 3.46 ^{**}
VI	400 mg	125.45 ± 4.75 ^{***}	75.57 ± 5.87 ^{***}

注:与空白组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$ 。

Note:compare with control,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$;compare with model groups,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$.

直接反映机体的体能变化,是一种较为常用的耐力测定法^[17],因此常用来作为疲劳试验模型,为了将实验过程中游泳时缩短时间,提高实验结果的可靠性。一般负重游泳实验是用来测定负重力竭游泳的时间,负重力竭游泳的时间长短反应了抗疲劳的能力;而自由游泳常用来测定游泳一段时间后相关生化指标的变化,由于不同实验组小鼠自由游泳的时间是相同的,因而相关生化指标的测定结果更有说服力 and 统计学意义。王玉文等^[18]在探讨参竹精片对小鼠的抗疲劳和抗氧化作用的研究中即采用了两种不同的游泳实验,因此本文也采用两种不同的小鼠游泳试验来测定不同的衡量指标。实验结果显示,玉竹多糖能够将强迫性力竭游泳实验小鼠的游泳时间显著延长,其中高剂量组和中剂量组效果最为显著($P < 0.01$),说明玉竹多糖能够将小鼠的运动耐力提高,表现出一定程度的抗疲劳活性。

中医学认为疲劳属于“虚症”范畴,它的产生于肾、脾相关,与脾的关系尤为密切。因此我们对心脏指数、肝脏指数、脾脏指数和肾脏指数等器官指数进

行了研究,结果发现负重游泳后西洋参阳性对照组和玉竹实验组的心脏指数和肝脏指数没有明显改变,而脾脏指数和肾脏指数显著高于模型组,表明玉竹多糖和灵芝西洋参口服液对心脏指数和肾脏指数的降低有抑制作用,即能提高机体的抗疲劳作用。

机体剧烈运动时,蛋白质及氨基酸的分解代谢增强,氨基酸会代谢转化生成尿素进入血液,血尿素氮含量增加,血尿素氮也是疲劳时肌肉酸痛的主要原因。因此,血尿素氮水平的高低是判断机体疲劳程度的重要指标^[19,20],运动后血尿素氮清除越快,则疲劳消除得越快,抗疲劳的效果亦越明显在本研究中,数据表明 POP 具有降低或延缓运动后 BUN 形成的能力。

运动可以引起脂质过氧化反应从而产生自由基,自由基对肌肉细胞造成损害,在疲劳条件下,MDA 水平增加并伴随着减少水平的抗氧化酶 GSH、CAT 和 SOD 的减少,而 SOD 是机体清除氧自由基的重要酶,直接反映机体抗氧化水平;另外 MDA 是自由基引起的脂质过氧化的主要产物之一,MDA 含

量可间接表现机体抗氧化能力及清除氧化产物的能力^[21]。POP 喂养后能提升小鼠肝匀浆中 SOD 活性增强,有助于减少自由基的堆积,从而延缓疲劳;并且显著降低肝匀浆 MDA 含量,表明 POP 有助于降低自由基的氧化过程,抵抗机体的疲劳。

参考文献

- 1 Chaudhuri A, Behan PO. Fatigue in neurological disorders [J]. *Lancet*, 2004, 363:978-988.
- 2 Papanicolaou DA, Amsterdam JD, Levine S, et al. Neuroendocrine aspects of chronic fatigue syndrome [J]. *Neuroimmunomodulat*, 2004, 11:65-74.
- 3 Li M, Donglian C, Huaixing L, et al. Anti-fatigue effects of salidroside in mice [J]. *J Med Coll PLA*, 2008, 23:88-93.
- 4 Darbinyan V, Kteyan A, Panossian A, et al. Rhodiola rosea in stress-induced fatigue—A double blind cross-over study of a standardized extract SHR-5 with a repeated low-dose regimen on the mental performance of healthy physicians during night duty [J]. *Phytomedicine*, 2000, 7:365-371.
- 5 Flora of China Commission (植物志编辑委员会). Flora of China: Vol 25 (中国植物志:第 25 卷) [M]. Beijing: Peking University Science Press, 1978:52-53.
- 6 Guo HZ (郭怀忠), Chen CY (陈春英), Zhao HR (赵焕荣). Determination of polysaccharide and their monosaccharide composition from polygonatum and odoratum by CZE [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2011, 17:65-69.
- 7 Yang XJ (杨晓杰), Yu KC (于侃超), Li N (李娜), et al. Anti-fatigue activity of polysaccharide from *Platycodon grandiflorum* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27:459-461.
- 8 Ye M (叶敏), Wen Z (文竹), Huang JZ (黄家振), et al. Effects of *Dictyophora rubroalbata* polysaccharide on anti-fatigue and hypoxia endurance in Mice [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28:416-419.
- 9 Li JP (李吉萍), Zhu GH (朱冠华), Yuan Y (袁野), et al. Anti-tumor and immune function regulation effects of Radix isatidis polysaccharides *in vivo* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29:2010-2016.
- 10 Gao XX (高笑笑), Wang G (王刚), Zhang H (张华), et al. Activation effect of crude polysaccharide from *Arenaria kansuensis* on proliferation and function of murine immunocyte *in vitro* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29:1188-1192.
- 11 Li Z (李钟), Liu M (刘敏), He ZX (何镇星), et al. Isolation, purification and monosaccharide analysis of an acidic polysaccharide from *Polygonatum odoratum* [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19:69-72.
- 12 Qian Y (钱勇), Qu W (曲玮), Liang JY (梁敬钰), et al. Four homoisoflavanones from *Polygonatum odoratum* [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2010, 30:1200-1203.
- 13 Xie JJ (谢建军), Hu MJ (胡蔓菁), Sun GJ (孙桂菊), et al. Protective effect of *Polygonatum odoratum* polysaccharides on pancreatic β -cell damage in alloxan-induced diabetes in rats [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research* (时珍国医国药), 2008, 19:2479-2481.
- 14 Xu DL (徐大量), Lin H (林辉), Li SQ (李盛青), et al. 玉竹水提液体内外抗氧化的实验研究 [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials* (中药材), 2008, 31:729-731.
- 15 Chen Y, Kong LD, Xia X, et al. Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *psoralea corylifolia* in the forced swimming test in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 96:451-459.
- 16 Porsolt R, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants Arch [J]. *Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229:327-336.
- 17 He LY (何来英), Yan WX (严卫星), Lou MM (楼密密), et al. Study on the test methods for the health food assessment on anti-fatigue effects [J]. *Chin J Food Hygi* (中国食品卫生杂志), 1997, 9(4):1-6.
- 18 Wang YW (王玉文), Xing YL (邢艺龄), Yao L, et al. Study on anti-fatigue and anti-oxidant effects of shenzujing tablets in mice [J]. *Laboratory Animal Science* (动物实验科学), 2017, 34(4):33-35.
- 19 Sommer E, Mielcarek S, Buchwald W, et al. The influence of *Rhodiola rosea* extracts on non-specific and specific cellular immunity in pigs, rats and mice [J]. *Cent Eur J Immunol*, 2007, 32:84-91.
- 20 Guan SH, Guo W, Wei J, et al. Adjuvant effects of salidroside from *Rhodiola rosea* L. on the immune responses to ovalbumin in mice [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2011, 33:738-743.
- 21 Chi A, Hong L, Kang C, et al. Anti-fatigue activity of a novel polysaccharide conjugates from Ziyang green tea [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 80:566-572.