

参麦多糖口服液的制备及其抗疲劳活性探究

朱忠铠,庄宇娇,殷中琼,邹元锋*

四川农业大学动物医学院天然药物研究中心,成都 611130

摘要:水提醇沉法提取得到参麦注射液中未利用到的多糖成分,通过单因素实验筛选,最终制备得到参麦多糖口服液;并将三种不同浓度多糖口服液的灌胃小鼠,探究抗疲劳活性。结果表明参麦多糖口服液的辅料为0.1%对羟基苯甲酸甲酯,0.2%羧甲基纤维素钠及2%的蜂蜜;动物实验表明参麦多糖口服液能够提高小鼠游泳时间,增加肌糖原、乳酸脱氢酶和磷酸激酶的含量,降低乳酸与尿素氮的代谢堆积。结果表明参麦多糖口服液具有抗疲劳作用。

关键词:参麦注射液;多糖;口服液;抗疲劳

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)Suppl-0138-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.S.020

Preparation of Shenmai polysaccharide oral liquid and study on its anti-fatigue activity

ZHU Zhong-kai, ZHUANG Yu-jiao, YIN Zhong-qiong, ZOU Yuan-feng*

1 Natural Medicine Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: The unused polysaccharide components in Shenmai injection were extracted by water extraction and alcohol precipitation method, and the auxiliary materials of Shenmai polysaccharide oral liquid were screened. Finally, Shenmai polysaccharide oral liquid was obtained. And three different concentrations of polysaccharide oral liquid were given to mice to explore the anti-fatigue activity. The results showed that 0.1% methyl p-hydroxybenzoate, 0.2% CMC-Na and 2% honey were the auxiliary materials of Shenmai polysaccharide oral liquid. Moreover, animal experiments showed that the oral liquid could increase the swimming time, the contents of muscle glycogen, lactate dehydrogenase and phosphokinase in mice, decreased the metabolism accumulation of lactate and urea nitrogen. These results showed that Shenmai polysaccharide oral liquid had anti fatigue effect.

Key words: Shenmai injection; polysaccharide; oral liquid; anti-fatigue

参麦注射液是由红参以及麦冬组成的中药复方制剂,其源于《症因脉治》中的“生脉饮”,目前临幊上将此注射液用于治疗气阴两虚型之休克、冠心病、病毒性心肌炎、慢性肺心病、粒细胞减少症等疾病^[1]。多糖是人参以及麦冬的主要有效成分之一,人参多糖具有显著的抗肿瘤、抗氧化、抗疲劳、降低血糖以及免疫调节的作用^[2]。相比较于人参,多糖在麦冬中具有更高的含量,同时表现出降血糖、抗氧化、抗心肌缺血以及免疫调节等药理作用^[3]。

参麦注射液是通过乙醇对红参以及麦冬中皂苷

成分进行提取,众多研究表明,参麦注射液的主要成分是人参皂苷以及麦冬皂苷,另外还含有氨基酸类、无机盐类以及糖类化合物^[4-6]。而参麦注射液中仅含三糖以下的寡糖,并不含有多糖成分,因此本实验从参麦注射液的废料中对多糖成分进行提取,制备成为多糖口服液,并进一步探究其抗疲劳活性。

1 实验材料

1.1 供试药材

红参、麦冬均购置于四川省成都市荷花池中药材市场,经四川农业大学动物医学院邹元锋副教授鉴定为五加科植物人参的熟制品红参(red ginseng)以及百合科植物麦冬(沿阶草,*Ophiopogon japonicus* (Linn. f.) Ker-Gawl.)的干燥块根麦冬。

1.2 试剂

苯酚、浓硫酸、对羟基苯甲酸甲酯、羧甲基纤维

收稿日期:2019-11-28 接受日期:2020-06-02

基金项目:国家农业产业技术体系四川兽药创新团队专项(CARS-SVDIP);四川省科技厅国际合作项目(2017HH0093)

*通信作者 Tel:86-286291470;E-mail:yuanfengzou@scau.edu.cn

素(分析纯,成都浩博优公司);血乳酸(BLA)ELISA试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH)ELISA试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)ELISA试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)ELISA试剂盒、丙二醛(MDA)ELISA试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)ELISA试剂盒、磷酸激酶(CK)ELISA试剂盒、肌糖原ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)。

1.3 实验设备

无水乙醇;RE-3000 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);调温电热套(北京中兴伟业仪器有限公司);高压蒸汽灭菌锅(合肥华泰医疗设备有限公司);冷冻干燥机(泰事达机电设备(上海)有限公司)。

2 实验方法

2.1 参麦多糖的提取

按照参麦注射液的制备方法对红参和麦冬进行前处理:利用90%乙醇分别对红参和麦冬进行提取,其中红参提取次数为6次,麦冬提取次数为2次,料液比均为1:10,提取时间均为2 h。提取结束后,弃去提取液,将两种提取残渣烘干后按照1:1质量比混合,并按照1:30的料液比加入蒸馏水,提取2次,每次提取2 h,混合提取液,旋蒸蒸发仪浓缩至小体积,加入四倍体积的无水乙醇,置于4 °C冰箱24 h后,离心得到沉淀,将沉淀冷冻干燥得到参麦多糖。

2.2 参麦多糖口服液的制备

2.2.1 对防腐剂的筛选

常用的三类防腐剂为苯甲酸、对羟基苯甲酸酯类、山梨酸。它们的防腐效力均取决于制剂中未电离分子的浓度,故它们的防腐作用均受pH值的影响^[7]。因此首先对1%~4%的多糖溶液的pH进行测定,进一步对防腐剂进行筛选,筛选方案如表1所示。

表1 防腐剂筛选方案

Table 1 The plan of preservative screening

| pH | 可选择防腐剂 Optional preservative |
|------------|---|
| 4 < pH < 6 | 苯甲酸、山梨酸钾 Carboxybenzene, potassium sorbate |
| pH > 6 | 对羟基苯甲酸甲酯 Ethyl 4-hydroxybenzoate |

2.2.2 防腐剂含量的筛选

分别精密称取若干份上述供试液4 mL,加入不同浓度的防腐剂,每个浓度重复制备3份,充分溶解,室温下静置7天,观察溶液澄清度以确定防腐剂添加量。不同防腐剂筛选范围如表2。

表2 不同防腐剂筛选范围

Table 2 Screening range of different preservatives

| 防腐剂 Preservative | 含量 Content (W/V) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 苯甲酸 Carboxybenzene | 0.1%、0.2%、0.25% |
| 山梨酸钾 Potassium sorbate | 0.1%、0.15%、0.2% |
| 对羟基苯甲酸甲酯 Ethyl 4-hydroxybenzoate | 0.01%、0.02%、0.03%、 0.04%、0.05% |

2.2.3 稳定剂含量的筛选

分别精密称取9份上述供试液4 mL,加入含量分别为0.1%、0.2%、0.3%的羧甲基纤维素钠,每个浓度重复制备3份,常温静置7天,观察各溶液的澄清度及稳定程度,确定稳定剂添加量。

2.2.4 矫味剂含量的筛选

分别精密量取3份上述供试液,每份为4 mL,加入最终质量分数为5%、6%、7%、8%的蜂蜜,每个浓度重复配置3份。根据下表3口服液评分细则^[8],随机选取10人评分后求均值为口感综合评分,确定蜂蜜用量。

表3 多糖口服液感官评鉴标准

Table 3 Sensory evaluation criteria for polysaccharide oral liquid

| 等级(分值) Grade (Score) | 口感(3) Taste (3) | 色泽(3) Color (3) | 香味(2) Fragrance (2) | 质地(2) Texture (2) |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|------------------------|----------------------|
| 一级 First Level(8.1~10) | 酸甜可口,柔和 | 淡黄,清亮 | 清香味 | 均匀,沉淀物易复溶 |
| 二级 Secondary Level(6.1~8.0) | 滋味略淡 | 淡黄,混浊 | 酸甜失调 | 摇匀后仍有少量沉淀物 |
| 三级 Third grade(5.1~6.0) | 过酸或过甜 | 色暗,混浊 | 略带异味 | 含较多杂质 |

2.2.5 参麦多糖口服液的配制

向调好pH的参麦提取液中加入最佳含量的矫

味剂、防腐剂、稳定剂,常压过滤即得到参麦多糖口服液,将口服液灌装于灭菌后的10 mL棕色瓶中,在

121 ℃下高压灭菌 30 min 即得参麦多糖口服液。

2.3 动物分组及给药方法

40 只 Balb/C 小鼠(雌雄各半)预饲七天,预饲完毕后将小鼠随机分为空白组、参麦多糖口服液高剂量组、中剂量组、低剂量组,每组 10 只小鼠。其中空白组小鼠灌胃生理盐水,参麦多糖口服液组灌胃分别给药质量分数为 4%、2% 以及 1% 的参麦多糖口服液,灌胃时间为 30 天,剂量为 0.1 mL/10 g。

2.4 小鼠负重游泳实验

在小鼠灌胃结束后,对小鼠的体重进行记录,然后按照小鼠体重的 5%,在其尾根处附加重物,以小鼠头沉没水中 10 s 为游泳结束,记录小鼠的游泳时间。游泳实验结束后,摘眼球取血,得到血液后将其放置于 4 ℃冰箱,过夜,待血清析出后,3 500 rpm 离心 10 min,吸上层血清用于生化指标测定。

2.5 生化指标的测定

血清用于血乳酸(BLA)、乳酸脱氢酶(LDH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)以及磷酸激酶(CK)的测定,以上指标均按照 ELISA 试剂盒说明书进行测定。

2.6 肌糖原(MG)的测定

眼球取血后,解剖取出小鼠腿部肌肉,称重,然后将小鼠的组织(肌肉和肝脏,质量小于 100 mg)按质量体积比 = 1:9 (mg:mL)加入相应体积的生理盐水,经组织粉碎机粉碎后得相应的组织样液,以上实验步骤均在冰上进行。3 500 rpm 离心 10 min 得到组织上清,用于小鼠肌糖原的测定,按照 ELISA 试剂盒说明书进行测定。

2.7 统计学方法

实验数据采用 SPSS 20.0 软件分析,进行单因素方差分析及组间两两比较,实验结果用($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 表明具有显著性差异。

3 结果

3.1 参麦多糖口服液的筛选

对参麦多糖口服液的辅料进行筛选,得到最佳辅料配方如下所示,防腐剂为对羟基苯甲酸甲酯,添加含量为 0.1%,稳定剂为羧甲基纤维素钠,添加含量为 0.2%;矫味剂为蜂蜜,添加含量为 2%。因此分别配制多糖浓度 1%、2% 以及 4% 的多糖溶液,再添加得到的辅料配方,补充水至 100%,灭菌后得到参麦多糖口服液。

3.2 游泳时间

小鼠游泳时间如表 4 所示,在高剂量的参麦多糖口服液灌胃后,与空白组相比,小鼠的游泳时间有显著的提升($P < 0.05$),中剂量与低剂量的参麦多糖口服液也显著性提高了小鼠的游泳时间($P < 0.05$),但是提升作用没有高剂量显著。

表 4 小鼠游泳时间($n = 10$)

Table 4 Swimming time of mice ($n = 10$)

| 组别 Group | 游泳时间 Swimming time(s) |
|----------------|------------------------------------|
| 空白组 Control | 1 523. 88 ± 287. 55 ^a |
| 高剂量组 High-dose | 6 165. 13 ± 1 170. 17 ^b |
| 中剂量组 Mid-dose | 3 570. 43 ± 732. 43 ^c |
| 低剂量组 Low-dose | 2 567. 33 ± 158. 26 ^d |

注:不同字母表示组别之间具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

Note: Different letters indicate significant differences between groups, $P < 0.05$.

3.3 生化指标测定

3.3.1 参麦多糖口服液对血清中 LA、LDH、BUN 和 CK 的影响

小鼠血清相关抗疲劳生化指标如图 1~4 所示。如图 1 所示,与空白组相比,高剂量以及中剂量的参麦多糖口服液显著降低($P < 0.05$)血乳酸(LA)的含量。而相应的,再给要参麦多糖口服液后,血清中乳酸脱氢酶(LDH)的测定结果如图 2 所示,LDH 在血清中的含量显著性的提升($P < 0.05$),其中高剂量与中剂量的参麦多糖口服液明显提升了 LDH 的含量水平。BUN 的测定结果如图 3 所示,参麦多糖口服液显著性降低了小鼠血清中 BUN 的生成($P < 0.05$);在本研究中,CK 的测定结果如图 4 所示,4% 以及 2% 质量分数的参麦多糖口服液显著性的提升了 CK 在血清中的含量水平($P < 0.05$)。

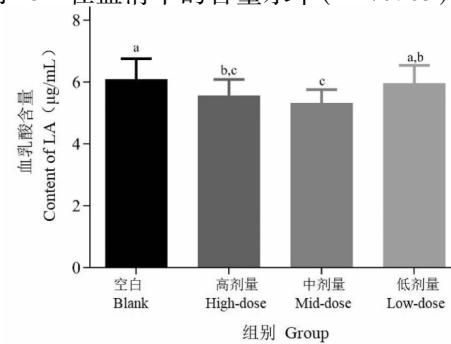


图 1 参麦多糖口服液对小鼠血乳酸(LA)含量的影响

Fig. 1 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid

on blood lactic acid (LA) content in mice

注:不同字母表示组别之间具有显著性差异, $P < 0.05$,下同。

Note: Different letters indicate significant differences between groups,

$P < 0.05$ 。

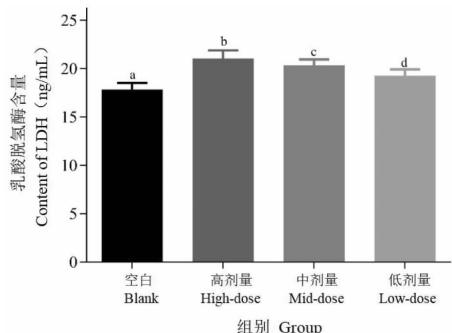


图2 参麦多糖口服液对小鼠乳酸脱氢酶(LDH)含量的影响

Fig. 2 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on lactate dehydrogenase (LDH) content in mice

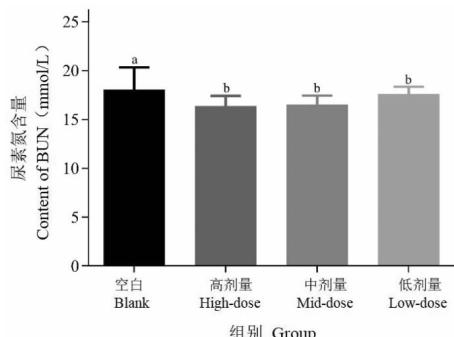


图3 参麦多糖口服液对小鼠血清尿素氮(BUN)含量的影响

Fig. 3 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on blood urea nitrogen (BUN) content in mice

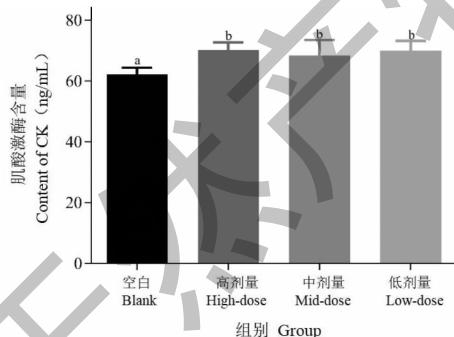


图4 参麦多糖口服液对小鼠血清肌酸激酶(CK)含量的影响

Fig. 4 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on creatine kinase (CK) content in mice

3.3.2 参麦多糖口服液对血清中 SOD、T-AOC、GSH-Px、MDA 的影响

对血清中的 GSH-Px、SOD、MDA、T-AOC 进行测定,结果如图 5~8 所示。在灌胃给药参麦多糖口服液后, GSH-Px 的含量显著性的提高(图 5, $P < 0.05$) ,三种剂量组均明显的提高了血清中 GSH-Px 的含量水平;同时 4% 与 2% 的参麦多糖口服液可以提高 SOD 在血清中的含量,提高对自由基的清除能力(图 6, $P < 0.05$) ;另外,参麦多糖口服液还可以提

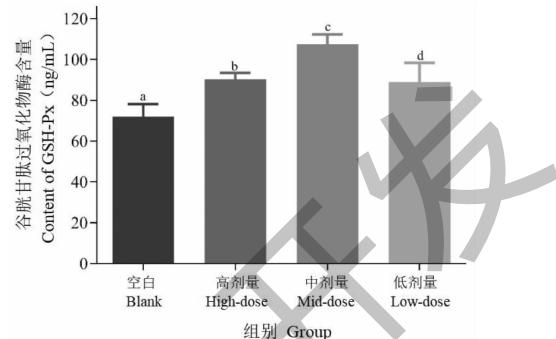


图5 参麦多糖口服液对小鼠血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量的影响

Fig. 5 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on glutathione peroxidase (GSH-Px) content in mice

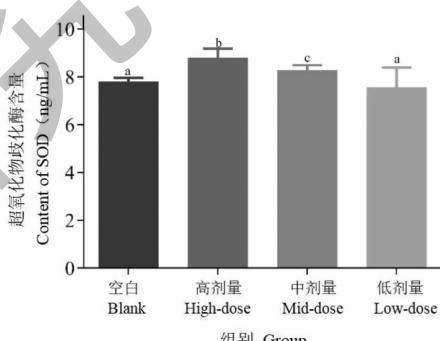


图6 参麦多糖口服液对小鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)含量的影响

Fig. 6 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on superoxide dismutase (SOD) content in mice

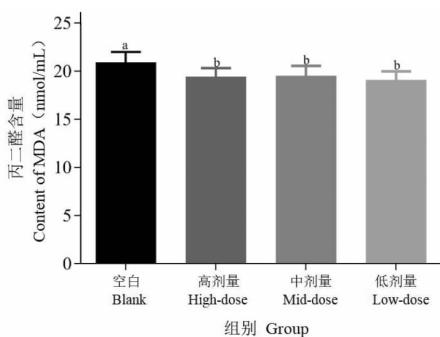


图7 参麦多糖口服液对小鼠血清丙二醛(MDA)含量的影响

Fig. 7 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on malondialdehyde (MDA) content in mice

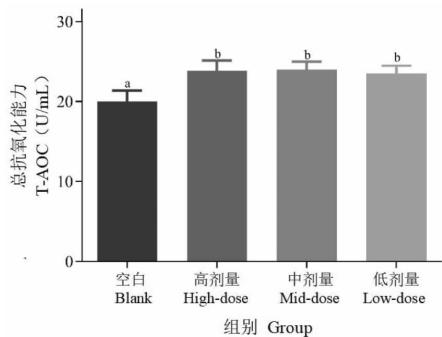


图 8 参麦多糖口服液对小鼠总抗氧化能力(T-AOC)的影响

Fig. 8 Effects of Shenmai polysaccharide oral liquid on total antioxidant capacity (T-AOC) in mice

高总抗氧化能力,提高 T-AOC 在体内的含量(图 7, $P < 0.05$)。然而,参麦多糖口服液给药于小鼠后,小鼠运动后血清中的 MDA 含量显著性的下降(图 8, $P < 0.05$)。

4.3.3 肌糖原的测定

对小鼠肌肉中的肌糖原含量进行测定,结果如图 9 所示。与空白组相比,高剂量与中剂量的参麦多糖口服液可以显著性提高肌糖原的存储水平($P < 0.05$),而低剂量的参麦多糖口服液则显著性的降低了肌肉中糖原的储存($P < 0.05$)。

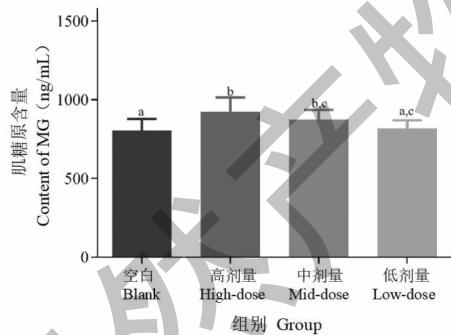


图 9 参麦多糖口服液对小鼠肌糖原(MG)含量的影响

Fig. 9 Effect of Shenmai polysaccharide oral liquid on muscle glycogen (MG) content in mice

4 讨论

参麦注射液由古方生脉饮衍变而来,由红参以及麦冬两味药材组成。目前参麦注射液在临幊上主要用于治疗心血管疾病以及慢性疾病^[9]。有研究表明,参麦注射液的有效成分是人参皂苷以及麦冬皂苷^[10,11],而并不含有多糖成分。大量研究表明,红参多糖以及麦冬多糖均具有良好的生物活性,比如抗氧化、抗疲劳、提高免疫功能等^[12-14]。

疲劳最直接最客观的表现是运动耐力下降,游泳时间是体现药物抗疲劳作用的最佳指标^[15],本文将参麦多糖口服液灌胃小鼠后,发现其可以显著性的提高小鼠游泳时间,且呈高剂量组 > 中剂量组 > 低剂量组的趋势。乳酸是运动性疲劳产生的物质之一,在剧烈运动过程中,如果体内的乳酸不及时处理,乳酸堆积会导致肌肉收缩,造成肌肉酸痛;乳酸脱氢酶是一种糖酵解酶,主要作用是催化乳酸氧化为丙酸,在呼吸链过程中将氢转移给 NAD 成为 NADH^[16,17]。在本实验中,参麦多糖口服液可以提高乳酸脱氢酶的含量,降低剧烈运动中乳酸的堆积。尿素氮是蛋白质的代谢产物,运动时,肌肉中能量代谢平衡遭到破坏,蛋白质及氨基酸的分解代谢加强,尿素生成增多,使血清尿素氮含量升高^[18],参麦多糖可以降低血清尿素氮在剧烈运动过程中的堆积,提高剧烈运动中能量代谢平衡。血清磷酸激酶与运动时和运动后能量平衡及转移有密切关系,是评定疲劳程度和恢复过程的重要指标^[19]。因此,参麦多糖口服液可以提高游泳小鼠的耐力,并降低乳酸以及血清尿素氮的堆积,提高磷酸激酶以及乳酸脱氢酶的含量,表现出良好的抗疲劳作用。

人体内氧化和抗氧化系统功能状态与健康密切相关,这一系统的动态平衡发生紊乱或破坏,会加速疲劳的发生。当自由基堆积,过多自由基将进攻生物膜上多元不饱和脂肪酸,产生脂质过氧化。引起生物膜结构和功能障碍,会使膜的通透性增加,流动性下降,细胞裂解,线粒体功能紊乱,合成 ATP 减少,能量供应不足,溶酶体膜被破坏释放大量水解酶类,从而是组织受到损伤,导致运动性疲劳。超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)能够有效清除自由基;丙二醛是机体脂质过氧化反应的重要代谢产物,其含量高低反映氧自由基水平和脂质过氧化的强度和速率,是了解氧自由基致机体细胞损伤的定量指标,其含量越高,脂质过氧化程度越高^[20-24]。在本实验中,参麦多糖口服液可以提高 T-AOC、SOD、GSH-Px 的含量水平,同时降低代谢产物 MDA 的产生,说明参麦多糖口服液具有清除自由基的作用。

在运动过程中,体内的糖原水平与耐力密切相关,糖原储备的提高有利于机体耐力速度的提高,肌糖原储备越多,运动时间越长。在本研究中,参麦多糖口服液能够显著性的提高肝糖原的储备^[25]。可以看出,参麦多糖口服液具有抗疲劳作用,同时能够

清理体内产生的自由基,具有抗体内外氧化自由基的作用。

参考文献

- 1 Wang RL, Fan XH, Yuan W, et al. Simultaneous determination of nine ginsenosides in Shenmai injection by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2019, 41: 987-990.
- 2 Li SS, Jin YP, Yao CL, et al. Research achievements on structures and activities of polysaccharides from *Panax ginseng* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39: 4709-4715.
- 3 Chen MH, Chen XJ, Wang M, et al. *Ophiopogon japonicus*—a phytochemical, ethnomedicinal and pharmacological review [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 181: 193-213.
- 4 Su JH, Lin BG, Wu SF, et al. The Determination of the content of active ingredients in Shenmai injection [J]. Clin J Chin Med(中医临床研究), 2015(15): 140-142.
- 5 Li N, Huang X, Wang B, et al. Identification of chemical constituents of *Ophiopogon japonicus* in Shenmai injection [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2017, 39: 2340-2344.
- 6 Yang XY, Ran J, Zhang Q, et al. Quality control of Shenmai injection by ¹H-NMR-PLS analysis [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2014, 36: 333-337.
- 7 Li HJ, Liu WQ. Application of preservatives in traditional Chinese medicine liquid preparations [J]. Chin Wild Plant Resour(中国野外植物资源), 2010, 17(4): 46-47.
- 8 Yang JZ, Chen JP. Preparation of *Htian Yuzao* polysaccharide oral liquid [J]. Process Agr Prod(农产品加工学刊), 2008(5): 76-78.
- 9 Yang L, Chen JT, Xu XZ, et al. Simultaneous determination of eleven components in Shenmai injection by UHPLC [J]. J Pharm Anal(药物分析杂志), 2019, 39: 1660-1665.
- 10 Zhang HJ, Wu YJ, Cheng YY. Analysis of “Shenmai” injection by HPLC/MS/MS [J]. J Pharmaceut Biomed, 2003, 31(1): 175-183.
- 11 Fan XH, Yi W, Cheng YY. LC/MS fingerprinting of Shenmai injection: a novel approach to quality control of herbal medicines [J]. J Pharmaceut Biomed, 2006, 40: 591-597.
- 12 Xiong SL, Li A, Huang N, et al. Antioxidant and immunoregulatory activity of different polysaccharide fractions from tuber of *Ophiopogon japonicus* [J]. Carbohydr Polym, 2011, 86: 1273-1280.
- 13 Chen X, Jin J, Tang J, et al. Extraction, purification, characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the root of *Ophiopogon japonicus* [J]. Carbohydr Polym, 2011, 83: 749-754.
- 14 Byeon SE, Lee J, Kim JH, et al. Molecular mechanism of macrophage mctivation by red ginseng acidic polysaccharide from Korean red ginseng [J]. Mediat Inflamm, 2012, 2012: 732860.
- 15 Qin XJ, Ma TJ, Jia cx. Anti-fatigue effect of soybean lecithin [J]. Chin Agr Sci Bull(中国农学通报), 2010, 26(12): 48-50.
- 16 Zheng HY. Anti-fatigue effect of corn peptide [J]. J Chin Cereal Oil Assoc(中国粮油学报), 2005, 25(1): 33-35.
- 17 Wang XB, Feng LS. Research progress on muscle lactic acid, intracellular pH and exercise fatigued [J]. Chin J Sports Med(中国运动医学杂志), 2009, 28(1): 109-111.
- 18 Chen JD. Sports Nutrition [M]. Beijing: Beijing Medical University Press, 2002.
- 19 Xiang HP, Mei HC, Ding BY, et al. Effect of Qigong foot massage on urea nitrogen concentration in exercise fatigued [J]. J Wuhan Inst Phys Edu(武汉体育学院学报), 1999(5): 86-87.
- 20 You WH, Liu QY, Xiong ZY. Research progress on the relationship between free radicals and sports fatigued [J]. Contemp Teach Edu(当代教师教育), 2007, 24: 125-128.
- 21 Cao HX, Zhao QQ, Li SM. Study progress in free radical and sport fatigued [J]. Sichuan Sports Sci(四川体育科学), 2006(4): 33-35.
- 22 Wang J, Li S, Fan Y, et al. Anti-fatigue activity of the water-soluble polysaccharides isolated from *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 130: 421-423.
- 23 Ni W, Gao T, Wang H, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharides from the fruits of four *Tibetan plateau* indigenous medicinal plants [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 150: 529-535.
- 24 Liu J, Du CX, Wang Y, et al. Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus* [J]. Exp Ther Med, 2015, 9: 483-487.
- 25 Chi A, Li H, 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.