

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.07.11

不同比例螺旋藻多糖与银杏叶提取物 对小鼠抗疲劳作用的研究

于蕾妍¹, 姜忠玲², 周 颖³, 李华涛^{2*}

(1. 青岛农业大学海都学院, 山东莱阳 265200; 2. 青岛农业大学, 山东青岛 266109; 3. 山东管理学院, 济南 250100)

[收稿日期] 2017-08-15 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 07-0072-06 [中图分类号] S853.74

[摘 要] 研究不同比例螺旋藻多糖与银杏叶提取物复合后对小鼠的抗疲劳作用。将螺旋藻多糖 (PSP) 与银杏叶提取物 (GBE) 按不同比例复合, 以 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量分别灌服小鼠, 给药 14 d 后造小鼠疲劳模型。通过检测小鼠力竭游泳时间、血清乳酸、血清尿素氮含量、肝脏肌糖原和肝糖原含量及心脏、肝脏、脾脏和肾脏指数变化, 观察复合螺旋藻多糖的抗疲劳效果。结果发现供试药物均可显著延长小鼠的力竭游泳时间, 减少运动过程中乳酸和血清尿素氮的产生、加速乳酸的消除, 还可增加肌糖原和肝糖原储备。另外, 灌服供试药物对小鼠的体重增长、肝脏指数、肾脏指数无显著影响 ($P>0.05$), 但可显著提高小鼠的心脏指数和脾脏指数 ($P<0.01$)。结果可知试验的供试药物均可显著提高小鼠的运动耐力, 延缓疲劳的产生或加速疲劳的消除, 具有一定的抗疲劳作用。PSP 与 GBE 以 1 : 1 和 2 : 1 比例复合使用对提高小鼠的抗疲劳能力能产生较好的协同增效作用。

[关键词] 螺旋藻多糖 (PSP); 银杏叶提取物 (GBE); 抗疲劳

Anti-fatigue Effect of Different Proportions of Spirulina Polysaccharide and Ginkgo Biloba on Mice

YU Lei-yan¹, JIANG Zhong-ling², ZHOU Ying³, LI Hua-tao^{2*}

(1. Haidu College Qingdao Agricultural University, Laiyang Shandong 265200, China; 2. Qingdao Agricultural University,

Qingdao Shandong 266109, China; 3. Shandong Management University, Jinan 250100, China)

Corresponding author: LI Hua-tao, E-mail: huataoli@foxmail.com

Abstract: The aim of this experiment is to study the anti-fatigue effect of different proportions of Spirulina Polysaccharide and Ginkgo Biloba. Polysaccharides from spirulina platensis (PSP) and Ginkgo Biloba extract (GBE) were mixed in different proportions. The compound was treated with intragastric administration of $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ for 14 d, and the mice were treated with fatigue. The exhaustive swimming time, serum lactic acid, serum urea nitrogen content, liver glycogen content and liver glycogen content were detected, heart, liver,

基金项目: 山东省自然科学基金 (No. BS2015NY001); 山东省高校计划项目 (No. J15LF03)

作者简介: 于蕾妍, 硕士, 副教授, 从事药用活性物质的提取与应用方向研究。

通讯作者: 李华涛。E-mail: huataoli@foxmail.com

spleen, and kidney index changes were examined in this research. Lactic acid and serum urea nitrogen were reduced during exercise. The exhaustive swimming time of mice can be significantly prolonged by the tested drugs, elimination of lactate metabolism was accelerated, and muscle glycogen and glycogen storage were increased by tested drugs. In addition, there was no significant effect on the body weight, liver and kidney index ($P>0.05$), but the cardiac index and spleen index were significantly improved ($P<0.01$). Studies have shown that all the tested drugs have certain anti fatigue effects, which can significantly improve exercise endurance, delay fatigue or accelerate the elimination of fatigue. The combination of PSP and GBE with 1 : 1 and 2 : 1 ratio is the best synergistic effect to improve the anti-fatigue ability of mice.

Key words: polysaccharides from spirulina platensis (PSP); Ginkgo Biloba extract (GBE); anti-fatigue

螺旋藻多糖 (Polysaccharides from spirulina platensis, PSP), 是从螺旋藻中提取得到的水溶性杂多糖, 它具有抗氧化、抗疲劳、抗肿瘤等多种生物活性, 受到了国内外学者的极大关注。银杏叶提取物 (Extract from Ginkgo Biloba), 具有抗氧化、清除自由基、抗衰老等多种生理功效^[1]。随着社会的发展, 人们的工作和生活节奏越来越快, 面临的压力也越来越大, 于是疲劳成为人们常见的亚健康状态, 严重影响着人们的生活质量。另外, 赛马以及畜禽的长途运输也因疲劳和应激诱发疾病的发生, 具有极大潜在危害。因此, 研究具有抗疲劳功能的保健品用于训练, 提高动物的运动能力、促进疲劳的消除和体力恢复, 已成为当今科学研究的热门课题。现代医学对疲劳的消除尚无明确有效的方法, 而中药的天然活性成分在抗疲劳方面以其抗疲劳效果明显, 毒副作用低, 可以长期服用等优势受国内外学者的广泛重视^[2]。将螺旋藻多糖与银杏叶提取物按多种比例复合, 研究复合制剂对小鼠抗疲劳能力的影响, 并对其抗疲劳作用机理进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 试验药物 螺旋藻粉: 购于中国科学院南海海洋研究所三亚站。参照文献^[3], 提取螺旋藻多糖, 多糖含量 93% 以上。银杏叶提取物: 青岛农业大学实验室自提, 总黄酮含量 $\geq 24\%$, 萜内酯含量 $\geq 6\%$ 。

1.2 试验动物 SPF 级昆明种小白鼠, 雄性, 体重 20 ± 2 g, 购于青岛市药检所。

1.3 小鼠力竭游泳试验 小鼠依体重随机分为空白对照组、PSP 组、GBE 组、1 : 1 复合组、1 : 2 复合组和 2 : 1 复合组, 每组 10 只。各给药组以灌胃法给予供试药物, 对照组以同种方法给予同等体积生理盐水。每只小鼠灌服量为 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 供试药物给予时间 14 d。

于末次给药后 30 min 后, 将小鼠尾根部负荷 8% 体重铅皮, 放入水温 25°C , 水深 30 cm 的清水中, 每个水桶一次放入 5 只小鼠, 进行负重游泳。记录小鼠入水至力竭而沉入水中并持续 8 s 不能浮出水面为止的时间为小鼠力竭游泳时间。按下列公式计算存活时间延长率:

延长率 = 实验组小鼠力竭游泳时间 / 空白组小鼠力竭游泳时间 - 1

小鼠死后立即取出解剖, 取其心、肝、脾、肾, 电子天平称湿重, 按下列公式计算脏器指数: 脏器指数 = 器官重 (mg) / 体重 (g)

1.4 血乳酸含量测定 小鼠分组及给药同 1.3。末次给药 30 min 后, 先于泳前安静时内眦采血, 测定全血乳酸含量。然后按小鼠体重负重 4% 铅皮, 将其放入水温 30°C , 水深 30 cm 的水桶中游泳 10 min, 捞出后立即擦干。于泳后休息 15 min、50 min 时分别进行第二次和第三次采血, 按照文献方法^[4], 测定全血乳酸含量。

1.5 血清尿素氮及肌糖原、肝糖原含量测定 小鼠分组及给药同 1.3。末次给药 30 min 后, 先于泳前安静时内眦采血, 测定血清尿素氮含量。然后将小鼠放入水温 30°C , 水深 30 cm 的水桶中游泳

90 min,捞出后立即擦干,第二次采血测定血清尿素氮含量^[5]。第二次采血后处死小鼠,立即解剖,取肝脏及双侧后肢肌肉(不含结缔组织),生理盐水洗净血污后用滤纸吸干,蒽酮比色法^[6]测定肝糖原及肌糖原含量。

1.6 统计学处理 采用 SPASS13.0 生物医学统计软件,进行单因素方差分析(LSD)。

表 1 复合螺旋藻多糖对小鼠力竭游泳时间的影响

Tab 1 Effects of compound PSP on exhaustive swimming time of mice

组别	动物数量/只	力竭游泳时间/s	延长率/%
空白对照组	10	223.75±18.34	0
PSP 组	10	263.36±22.19 * *	17.70
GBE 组	10	242.78±14.55 *	8.51
PSP : GBE=1 : 1 组	10	286.44±21.51 * *	28.02
PSP : GBE=1 : 2 组	10	278.46±18.06 * *	24.45
PSP : GBE=2 : 1 组	10	296.28±18.09 * *	32.42

与空白组相比,**P*<0.05,***P*<0.01

2.2 血乳酸含量 由表 2 可见:游泳前安静时各组小鼠血乳酸含量不存在显著差异,表明试验条件稳定。泳后休息 15 min 时,各组小鼠血乳酸含量均比泳前安静时升高,但各给药组小鼠血乳酸含量均低于空白对照组。复合螺旋藻多糖组与空白对照相比,差异极显著(*P*<0.01)。泳后休息 50 min 时,

2 结果与分析

2.1 小鼠力竭游泳时间 由表 1 可见,各给药组小鼠力竭游泳时间均比空白对照组显著延长(*P*<0.05)。其中,复合组的作用效果优于单一成分组;三种比例复合组中,2 : 1 复合组效果最好;两种单一成分组中,PSP 组的作用效果优于 GBE 组。

各组小鼠血乳酸含量均比泳后 15 min 时降低,但各给药组小鼠的血乳酸含量均显著低于空白对照组,且差异极显著(*P*<0.01)。其中,复合螺旋藻多糖组的血清乳酸含量低于单一成分组;三种比例复合组两两相比,2 : 1 复合组血清乳酸含量最低;两种单一成分组中,PSP 组乳酸含量低于 GBE 组。

表 2 复合螺旋藻多糖对小鼠血乳酸含量的影响

Tab 2 Effects of compound PSP on blood LA content in mice

组别	游泳前安静时/(mg · L ⁻¹)	游泳后 15 min/(mg · L ⁻¹)	游泳后 50 min/(mg · L ⁻¹)
空白对照组	248.64±24.09	512.12±22.47	409.09±27.84
PSP 组	251.52±28.04	466.67±19.76 *	325.45±40.09 * *
GBE 组	260.61±18.24	489.39±27.63	339.39±25.35 * *
PSP : GBE=1 : 1 组	248.48±23.59	424.24±22.09 * *	269.39±30.59 * *
PSP : GBE=1 : 2 组	243.94±25.35	448.48±39.87 * *	310.61±18.09 * *
PSP : GBE=2 : 1 组	250.00±25.13	418.18±23.59 * *	261.42±20.47 * *

与空白组相比,**P*<0.05,***P*<0.01。下同

2.3 血清尿素氮含量 由表 3 可见:泳前安静时各组小鼠血清尿素氮含量不存在显著差异,表明试验条件稳定。游泳 90 min 即刻,各组小鼠血清尿素

氮含量均比泳前安静时升高,但各给药组小鼠的血清尿素氮含量均显著低于空白对照组(*P*<0.01)。其中,复合螺旋藻多糖组的血清尿素氮含量低于单

一成分组;三种比例复合组中两两相比,2:1 复合组小鼠血清尿素氮含量低于 GBE 组。组血清尿素氮含量最低;两种单一成分组中,PSP

表 3 复合螺旋藻多糖对小鼠血清尿素氮含量的影响

Tab 3 Effects of compound PSP on BUN content in mice

组别	泳前安静时血清 尿素氮含量/(mmol·L ⁻¹)	泳后即刻血清 尿素氮含量/(mmol·L ⁻¹)	血清尿素氮含量 升高值/(mmol·L ⁻¹)
空白对照组	8.31±1.26	13.31±1.56	5.00
PSP 组	8.28±1.28	10.41±1.24 ^{**}	2.13
GBE 组	8.11±0.91	10.65±1.66 ^{**}	2.54
PSP:GBE=1:1 组	8.21±1.10	9.87±1.17 ^{**}	1.66
PSP:GBE=1:2 组	8.23±1.07	10.29±1.24 ^{**}	2.06
PSP:GBE=2:1 组	8.35±1.22	9.43±1.18 ^{**}	1.08

2.4 肌糖原及肝糖原含量 由表 4 可见,各给药组小鼠的肌糖原含量和肝糖原含量均明显高于空白对照组。与空白对照组相比,除 GBE 组外其它给药组小鼠肌糖原和肝糖原含量差异均达到极显著水平($P<0.01$)。复合螺旋藻多糖组小鼠肌糖原和肝糖原含量均高于单一成分组。

表 4 复合螺旋藻多糖对小鼠肌糖原及肝糖原含量的影响

Tab 4 Effects of compound PSP on liver glycogen and muscle glycogen content in mice

组别	肌糖原含量/(mg·g ⁻¹)	提高率/%	肝糖原含量/(mg·g ⁻¹)	提高率/%
空白对照组	3.74±0.56	—	12.18±2.10	—
PSP 组	5.14±0.48 ^{**}	37.43	15.53±1.35 ^{**}	27.50
GBE 组	4.32±0.64	15.51	13.67±1.48	12.23
PSP:GBE=1:1 组	5.83±0.73 ^{**}	55.88	17.63±1.50 ^{**}	44.75
PSP:GBE=1:2 组	5.42±0.47 ^{**}	44.92	15.56±1.75 ^{**}	27.75
PSP:GBE=2:1 组	5.76±0.47 ^{**}	54.01	18.74±2.28 ^{**}	53.86

2.5 体重及脏器指数 由表 5 可见,与空白对照组相比,各组小鼠的初始体重不存在显著差异($P>0.05$)。灌服供试药物 14 d 后,各给药组小鼠体重呈小于空白对照组的趋势,但差异不显著($P>0.05$)。灌服供试药物对小鼠的体重增长变化差异不显著($P>0.05$)。由表 6 可见,与空白对照组相比,供试药物对小鼠肝脏指数和肾指数无显著影响($P>0.05$),但可显著提高其心脏指数和脾脏指数,且差异极显著($P<0.01$)。

3 讨论与结论

螺旋藻是营养全面、均衡的生物,是一种极具开发潜力的的水生生物资源,其含有的生物活性物质具有多种生理功能。报道称,螺旋藻多糖对阿尔茨海默病模型小鼠脑线粒体氧化应激有保护作用,是脑线粒体营养素,高剂量效果最佳^[7]。大量的研究表明强度较大的运动可对机体带来氧化损害,适量的 GBE 可以降低运动中升高的氧化应激水平、增强运动能力、延长运动时间^[8]。

表 5 复合螺旋藻多糖对小鼠体重的影响

Tab 5 Effects of compound PSP on the body weight of mice

组别	动物数量/只	初始体重/g	末体重/g	增长值/g
空白对照组	10	19.7±1.3	29.9±2.1	10.2
PSP 组	10	20.0±1.2	29.4±2.4	9.4
GBE 组	10	20.2±1.1	28.5±2.5	8.3
PSP: GBE = 1:1 组	10	20.1±1.1	29.1±2.1	9
PSP: GBE = 1:2 组	10	19.7±1.1	29.2±2.4	9.5
PSP: GBE = 2:1 组	10	20.0±0.8	28.8±1.9	8.8

表 6 复合螺旋藻多糖对小鼠脏器指数的影响

Tab 6 Effects of compound PSP on organ index of mice

组别	心脏指数	肝脏指数	脾脏指数	肾脏指数
空白对照组	4.79±0.18	60.58±2.11	4.41±0.16	13.76±0.66
PSP 组	5.57±0.22 * *	62.94±3.30	5.07±0.14 * *	13.60±0.62
GBE 组	6.56±0.28 * *	61.18±3.43	4.89±0.19 * *	14.03±0.73
PSP : GBE = 1 : 1 组	5.85±0.28 * *	62.21±3.06	5.26±0.14 * *	13.93±0.18
PSP : GBE = 1 : 2 组	5.88±0.39 * *	62.27±3.61	5.03±0.34 * *	13.90±0.44
PSP : GBE = 2 : 1 组	5.98±0.31 * *	63.18±2.90	5.12±0.25 * *	13.81±0.71

与空白组相比, * $P<0.05$, * * $P<0.01$ 。

研究发现,将含有相同或相似官能团的化合物进行复合,能够使药物发挥协同增效作用^[9]。PSP 与 GBE 复合使用对提高小鼠的耐缺氧能力有一定的协同增效作用,延长小鼠在常压密闭缺氧条件下的存活时间^[10]。运动耐力是评价机体疲劳的一个重要指标^[11]。运动时肌肉收缩剧烈,糖酵解启动产生的乳酸含量升高,解离后导致肌肉中 H⁺ 浓度上升,pH 下降,进而引起一系列生化反应,导致疲劳的发生^[12]。

试验的供试药物均可不同程度的延长小鼠的力竭游泳时间,提高小鼠的运动耐力。PSP 与 GBE 以 1 : 1、1 : 2、2 : 1 比例复合使用及 PSP 单独使用都可通过有效地减少运动过程中乳酸的产生和加速过量乳酸的消除,减少蛋白质的消耗、降低血清尿素氮形成,增加肌糖原和肝糖原储备,从而提高机体的耐力,延缓疲劳的发生或加速疲劳的消除,发挥抗疲劳功效。GBE 单独使用可通过减少运动过程中蛋白质的消耗、降低血清尿素氮形成,加快乳酸等运动废物的代谢来发挥抗疲劳功效。Bailey

等证明,大鼠中脑和脑桥中 DA 合成和代谢下降与疲劳发生有关,而保持脑中 DA 的合成和代谢会延缓疲劳的发生^[13]。章梦瑶^[14]报道 GBE 可引起运动大鼠中脑的 DA 浓度显著上升。另外,GBE 抗疲劳功效的发挥还可能与其突出的强心作用和扩张血管、增加血流量,改善组织供氧和营养物质的供给有关。

目前国内外对 GBE 的作用效果进行多方面研究表明,其具有抗脑缺血缺氧、降血脂、清除氧自由基等多种生理活性,但具体作用的分子机制正在探究。濮海平^[15]等人报道,新生鼠缺血缺氧性脑损伤腹腔注射 GBE 后 24、48、72 h 均能增加 NSE、S-100mRNA 的基因表达,通过调节细胞能量代谢,保护脑组织,减轻缺氧缺血对脑组织的损伤。由于 GBE 有较为明显的强心作用,灌服 GBE 会使机体的应激能力增强,运动能力提高,使得运动量增大,血糖大量消耗,从而使肝糖原分解增加,储备减少,且试验中测定糖原含量的取样时间又是在一定时间的游泳运动之后,这可能也是试验中 GBE 组小

鼠糖原含量与空白对照组相比无显著性差异的原因之一,这一问题有待于进一步研究证实。

参考文献:

- [1] 柳闽生,陈 晔,徐常龙.银杏叶有效成分的研究与资源的开发利用[J].江西林业科技,2006(2):28-31.
- Liu M S, Chen Y, Xu C D. Study on Effective Constituent and Resource Exploitation on Ginkgo biloba [J]. Jiangxi Forestry Science and Technology, 2006(2):28-31.
- [2] 熊 斌,王杨科,尚书凤,等. 紫色甘薯醇提物抗疲劳机制研究[J]. 中国食品添加剂, 2017(1):65-70.
- Xiong B, Wang Y K, Shang S F, *et al.* Study on anti-fatigue mechanism of alcohol extracts of purple sweet potato [J]. China Food Additives, 2017(1):65-70.
- [3] 钱志刚. 螺旋藻多糖提取新工艺研究[J]. 淮海工学院学报, 2000,9(2):50-52.
- Qian Z G. A Study on the New Process to Separate Polysaccharide from Spirulina platensis [J]. Journal of Huaihai Institute of Technology, 2000, 9 (2): 50-52
- [4] 盛云峰, 宁洪波, 李徐延. 奶牛瘤胃酸中毒相关血液指标及乳酸含量的测定与分析[J]. 中国奶牛, 2008(6):43-45.
- Sheng Y F, Ning H B, Li X Y. Determination and Analysis of Correlative Blood Indices and Lactic Acid Content in Dairy Cow Suffered from Ruminant Lactic Acidosis [J]. China Dairy Cattle, 2008(6):43-45.
- [5] 方春龙, 方春露, 魏力深, 等. 训练方式对水球运动员血清酶和血尿素的影响[J]. 四川体育科学, 2016, 35(5):31-34.
- Fang C L, Fang C L, Wei L S, *et al.* Influence of Training Models on Water Polo Athletes Blood Serum enzyme and Carbamide Azote [J]. Sichuan Sports Science, 2016, 35(5):31-34.
- [6] 阴文娅, 曾 果, 张彩云. 小鼠肝糖原测定影响因素分析[J]. 现代预防医学, 2004, 31(3):359-360.
- Yin W Y, Zeng G, Zhang Y C. A study on the influence factors of measurement [J]. Modern Preventive Medicine, 2004, 31 (3):359-360.
- [7] 林智君,陈煜森,郑选梅,等. 螺旋藻多糖对阿尔茨海默病模型小鼠脑线粒体氧化应激保护[J]. 海南医学,2016,27(11):1731-1733.
- Lin Z J, Chen Y S, Zheng X M, *et al.* Protective effect of spirulina polysaccharide against cerebral mitochondrial oxidative stress in Alzheimer's disease mice model[J]. Hainan Med J, 2016, 27 (11):1731-1733.
- [8] 张雪琳. 关于运动性疲劳的氧自由基--脂质过氧化理论概述 [J].河北体育学院学报,2000,14(3):67-70.
- Zhang X L. A review of the theory of lipid peroxidation in oxygen free radicals in exercise induced fatigue[J]. Journal of Hebei Institute of Physical Education, 2000,14(3):67-70.
- [9] 王清吉,王友绍,何 磊,等. 茶多酚和银杏叶有效成分的抗辐射作用研究[J]. 核技术,2004, 27(2):148-150.
- Wang Q J, Wang Y S, He L, *et al.* Antiradiation effect of tea polyphenol and effective components from ginkgo leaves [J]. Nuclear Technology, 2004,27(2):148-150.
- [10] 于蕾妍,邹本草,周 颖,等. 螺旋藻复合多糖与银杏提取物对小鼠耐缺氧能力的影响[J].动物医学进展,2017,38(4):72-74.
- Yu L Y, Zou B G, Zhou Y, *et al.* Effect of spirulina complex polysaccharide on hypoxia tolerance in mice [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(4):72-74.
- [11] Wu R E, Huang W C, Liao C C, *et al.* Resveratrol Protects against Physical Fatigue and Improves Exercise Performance in Mice[J].Molecules,2013,18:4689-4702.
- [12] 宋伟峰,苏俊芳,罗淑媛. 荔枝多糖抗疲劳作用的实验研究 [J].中药材,2012,35(9):1485-1487.
- Song W F, Su J F, Luo S Y. Experimental study on Antifatigue Effect of litchi polysaccharide [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012,35(9):1485-1487.
- [13] 柳富平,赵 琅. 多巴胺与运动能力的关系[J].辽宁体育科技,2013,35(2):14-17.
- Liu F P, Zhao L. The relationship between dopamine and exercise ability [J]. Liaoning Sport Science and Technology, 2013, 35(2):14-17.
- [14] 章梦瑶,付 乐,张蕴琨. GBE 对运动大鼠中脑 SOD 活力、MDA 含量和 DA 浓度的影响[J].南京体育学院学报,2015,14(4):54-57.
- Zhang M Y, Fu L, Zhang Y K. Effects of GBE Motion Midbrain SOD Activity, MDA Concentration and DA Concentrations [J]. Joournal of Nanjing Institute of Physical Education: Natural Science, 2015,14(4):54-57.
- [15] 濮海平,刘 华,侯 琳,等. 银杏叶提取物抗鼠脑缺血缺氧的药理学机制研究[J]. 实用医药杂志,2007,24(10):1226-1228.
- Pu H P, Liu H, Hou L, *et al.* NES and S-100mRNA level change in newborn rat brain with hypoxic-ischemic brain damage, and the effects of ginkgo biloba extract on their expressions [J]. Practical Journal of Medicine Pharmacy, 2007, 24(10):1226-1228.