文章编号:1001-6880(2012)11-1545-04

密穗马先蒿不同萃取部位抗运动性疲劳的体内活性研究

朱梅菊[1,3],蔡彩凤[1],谭宁华[2],熊静宇[1],朱洪竹[3],罗齐军[1]

[1]湛江师范学院体育科学学院,湛江 524048;[2]中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,昆明 650204;[3]井冈山大学体育学院,吉安 343009

摘　要:本实验应用小鼠游泳训练疲劳模型,以人参为阳性对照,研究密穗马先蒿不同萃取部位的体内抗运动性疲劳作用。结果实验第四周末密穗马先蒿正丁醇组和正丁醇萃余物组的小鼠疲劳相关症状比单纯运动组明显减轻,体重增加($P<0.01$,$P<0.05$);力竭游泳时间分别比单纯运动组、密穗马先蒿石油醚组和乙酸乙酯组长($P<0.01$)。密穗马先蒿正丁醇组和正丁醇萃余物组的小鼠 RBC 计数、HCT 值和 HGB 浓度分别高于单纯运动组、密穗马先蒿石油醚组和乙酸乙酯组($P<0.01$,$P<0.05$)。因此我们认为密穗马先蒿正丁醇提取物和萃余物具有一定的抗运动性疲劳作用,其机理可能与其改善运动小鼠的贫血状态有关。

关键词:密穗马先蒿;疲劳;运动;贫血;小鼠

中图分类号:G804.7;R49　　**文献标识码**:A

Anti-fatigue Effects of Extracts from *Pedicularis Densispica* Franch on Exercise Mice

ZHU Mei-ju[1,3],CAI Cai-feng[1],TAN Ning-hua[2],XIONG Jing-yu[1],ZHU Hong-zhu[3],LUO Qi-jun[1]

[1]*Institute of Sports Science,Zhanjiang Normal College,Zhanjiang 524048,China*;[2]*State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China,Kunming Institute of Botany,Chinese Academy of Sciences,Kunming 650204,China*;[3]*School of Sports Science,Jinggangshan University,Jian 343009,China*

Abstract: This study aimed to investigate anti-fatigue effects of the different extracts from *Pedicularis densispica* Franch on overtrained mice. The anti-fatigue effects of the different extracts from *P. densispica* were tested by mice to swim training fatigue model using Ginseng as a positive control. The results showed that mice in the exercise + *n*-BuOH extracts group and the exercise + remains of *n*-BuOH extraction group showed significantly lessened symptoms related to fatigue,increased appetite and body weight compared to the exercise group ($P<0.01$,$P<0.05$). The exhaustive swimming time of mice in the exercise + *n*-BuOH extracts group and the exercise + remains of *n*-BuOH extraction group were observed to be significantly longer than those in the exercise group,the exercise + petroleum ether extracts group and the exercise + EtOAc extracts group after the fourth week ($P<0.05$,$P<0.01$). RBC count and HCT values and hemoglobin concentration (HGB) of the exercise + *n*-BuOH extracts group and the exercise + remains of *n*-BuOH extraction group were significantly higher than those of the exercise group、the exercise + petroleum ether extracts group and the exercise + EtOAc extracts group ($P<0.01$,$P<0.05$). This suggested that the *n*-BuOH extracts and the remains of *n*-BuOH extraction of *P. densispica* could significantly delay exercise fatigue symptoms and improve exercise capacity of mice. The mechanism of action might be related to improvement of anemia status.

Key words: *Pedicularis densispica* Franch; fatigue; exercise; anemia; mouse

玄参科马先蒿属植物约有 500 余种,其中三分之二在我国有分布。多有滋阴补肾、补中益气、健脾和胃等功效,亦有清热解毒、利尿、保肝等作用[1]。药理研究表明,该属植物所含的苯丙素苷类化合物具有清除自由基、延缓骨骼肌疲劳等多种生理活性[2]。密穗马先蒿(*Pedicularis densispica* Franch)为资源丰富的马先蒿属植物之一,民间用于产后体虚,效果显著[1]。研究表明美观马先蒿(*P. decora*)的根(太白参)具有增强身体机能作用[3],其冷提取物具有明显的抗氧化损伤和延缓疲劳作用[4]。我们的研究表明密穗马先蒿提取物具有明显的改善长时间递增大强度运动大鼠贫血状态而达到抗疲劳的作

收稿日期:2011-12-29　　接受日期:2012-05-14

基金项目:广东省自然科学基金项目(10152404801000008);国家自然科学基金项目(31160217)

* 通讯作者 E-mail:zhu_mj@163.com

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

用[5,6]，为此本研究进一步对密穗马先蒿进行划段分析其抗运动性疲劳的作用，为马先蒿属植物抗运动性疲劳活性成分的分离提取提供有益的依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

昆明种4周龄健康雄性SPF级小鼠70只，体重22.67±2.65 g，由广东医学院实验动物中心提供(粤检证字99A053号)。实验动物适应性喂养2 d后，随机分为正常组(Ⅰ)、运动组(Ⅱ)、阳性对照组(人参提取物，Ⅲ)、石油醚组(Ⅳ)、乙酸乙酯组(Ⅴ)、正丁醇组(Ⅵ)、正丁醇萃余物组(Ⅶ)。每组10只，分笼饲养，自由饮食，室温18~24 ℃。

1.2 人参提取物的制备

从昆明市药材局购买云南产人参30 g。首先运用石油醚分别热提3次，减压浓缩成浸膏。其残渣先用95%的乙醇分别热提3次，减压浓缩成浸膏。然后再用水煎煮3次，在60 ℃的水浴中浓缩成浸膏。最后将此三者合并，得到3 g混合提取物。提取物每mg相当于0.01 g生药。放4 ℃冰箱保存备用。

1.3 药物处理及给药方法

密穗马先蒿采集于云南省中甸，由中国科学院昆明植物研究所王红研究员鉴定为密穗马先蒿。350 g密穗马先蒿，先用95%的乙醇分别热提3次(4、3、3 h)，减压浓缩成浸膏，得到30 g乙醇提取物。依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取，分别减压浓缩成浸膏，得到4.65 g石油醚提取物(每mg相当于0.075 g生药)、5.33 g乙酸乙酯提取物(每mg相当于0.065 g生药)、5.10 g正丁醇提取物(每mg相当于0.068 g生药)和5.78 g正丁醇萃余物(每mg相当于0.061 g生药)。放4 ℃冰箱保存备用。石油醚提取物组、乙酸乙酯提取物组、正丁醇提取物组、正丁醇萃余物组分别灌胃石油醚提取物(0.62 g/kg体重)、乙酸乙酯提取物(0.71 g/kg体重)、正丁醇提取物(0.68 g/kg体重)、正丁醇萃余物(0.77 g/kg体重)。每天灌胃1次，药物剂量换算参照文献[7]。正常组、运动组以等体积生理盐水灌胃，阳性对照组以等体积人参提取物(0.32 g/kg体重)灌胃，实验时间4周。

1.4 运动方式

除正常组外分别于灌胃后3 h进行无负重游泳，水温29 ℃，水深40 cm。运动方案参照文献[4]，第1、2周每天30 min，第3周每天60 min，第4周每天90 min，每周游6 d，共4周。第29 d进行一次性力竭游泳，记录力竭时间。力竭标准为小鼠沉入水中超过10 s，且小鼠在平面上无法完成翻正动作。

1.5 血液学参数的测定

小鼠力竭游泳运动后用1%戊巴比妥麻醉，心脏采血，肝素抗凝，用日本产Symsex K-4500血细胞分析仪进行测定。检测项目包括：红细胞计数(RBC)、血红蛋白含量(HB)、红细胞比积(HCT)。

1.6 数据处理

所有数据均以$\bar{x} \pm s$表示，并采用方差分析进行均数间差异显著性检验，显著性水平$\alpha = 0.05$。统计学处理均在SPSS 10.0计算机统计软件上完成。

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 体重等一般情况的变化

本项研究结果(表1)表明实验前各组小鼠健康活泼，毛发光泽，体重差异无显著性($P > 0.05$)。实验第一周各组小鼠体重明显增长，差异无显著性($P > 0.05$)。实验第二周各组小鼠体重均增长，但Ⅳ和Ⅴ组小鼠体重增长明显低于Ⅰ和Ⅲ($P < 0.01$，$P < 0.05$)。实验第三周末各组小鼠体重均增长，但均低于Ⅰ组小鼠体重($P < 0.01$，$P < 0.05$)。实验第四周末Ⅱ组小鼠活动减少，毛发枯萎，无光泽，有的小鼠出现大片脱毛现象，食欲减少，神疲乏力，体重明显降低，与Ⅰ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ组比较，有显著性差异($P < 0.01$，$P < 0.05$)；Ⅵ和Ⅶ组小鼠上述症状明显减轻，食欲增加，体重持续增长；Ⅳ和Ⅴ组小鼠活动减少，毛发枯萎，无光泽，有的小鼠出现大片脱毛现象，食欲减少，神疲乏力，体重下降。提示密穗马先蒿不同萃取部位抗运动性疲劳的效果以正丁醇提取物和正丁醇萃余物明显。

2.1.2 对力竭游泳时间的影响

本项研究结果(见表2)表明Ⅵ和Ⅶ组小鼠力竭游泳时间比Ⅱ组长($P < 0.01$)；Ⅳ和Ⅴ组小鼠力竭游泳时间与Ⅱ组，差异无显著性($P > 0.05$)。Ⅵ和Ⅶ组小鼠力竭游泳时间比较差异无显著性($P > 0.05$)。提示密穗马先蒿不同萃取部位提高小鼠运动能力的效果以正丁醇提取物和正丁醇萃余物明显。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 密穗马先蒿不同萃取部位对小鼠体重的影响 (g)

Table 1 The effects of the different extracts from *P. densispica* on body weight of mice (g)

实验周期 Experimental period	Ⅰ[a]	Ⅱ[a]	Ⅲ[a]	Ⅳ[b]	Ⅴ[c]	Ⅵ[b]	Ⅶ[b]
实 验 前 Before experiment	22.98 ± +3.75	23.10 ± +3.53	23.25 ± +2.80	22.14 ± +2.72	23.03 ± +2.33	22.07 ± +3.45	22.03 ± +3.38
第一周末 End of first week	29.60 ± +2.41	27.80 ± +4.28	28.90 ± +2.69	25.54 ± +3.54	26.77 ± +1.99	28.31 ± +2.10	27.24 ± +3.64
第二周末 End of second week	31.74 ± +3.52	29.43 ± +4.39	31.02 ± +2.46	27.18 ± +3.78**##	27.76 ± +2.24**#	30.45 ± +1.80	29.94 ± +3.17
第三周末 End of third week	36.11 ± +2.90	32.04 ± +3.83	33.14 ± +2.86	28.36 ± +3.41**##	28.91 ± +2.36**##	31.64 ± +2.07*	31.68 ± +2.07*
第四周末 End of fourth week	37.68 ± +2.64	26.85 ± +3.87**	33.04 ± +3.31*++	28.03 ± +2.70***+##	27.64 ± +2.54**##	32.80 ± +4.00***+	32.85 ± 2.02*+

注: [a]实验前 $n=10$,实验第三周末 $n=8$; [b] 实验前 $n=10$,实验第三周末 $n=6$; [c] $n=10$; 与Ⅰ组比较* $P<0.05$,** $P<0.01$; 与Ⅱ 组比较,+ $P<0.05$,++ $P<0.01$; 与 Ⅲ组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$。

Note: [a]before the experiment, $n=10$; the end of third week, $n=8$; [b]before the experiment, $n=10$; the end of third week, $n=6$; [c] $n=10$. Compared with Ⅰ group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; Compared with Ⅱ group,+ $P<0.05$,++ $P<0.01$; Compared with Ⅲ group,# $P<0.05$,## $P<0.01$.

表 2 密穗马先蒿不同萃取部位对小鼠力竭游泳时间的影响(min)

Table 2 The effects of different extracts from *P. densispica* on exhaustive swimming time of mice (min)

分组 Groups	Ⅱ[a]	Ⅲ[a]	Ⅳ[b]	Ⅴ[c]	Ⅵ[b]	Ⅶ[b]
时间 Time (min)	117.88 ± 14.65	161.75 ± 29.49**	118.83 ± 11.32++	115.71 ± 13.05++	151.67 ± 27.87**	152.67 ± 29.60**

注: [a] $n=8$, [b] $n=6$, [c] $n=7$. 与Ⅱ组比较,** $P<0.01$。与Ⅲ组比较,++ $P<0.01$。

Note: [a] $n=8$, [b] $n=6$, [c] $n=7$. Compared with Ⅱ group,** $P<0.01$; Compared with Ⅲ group,++ $P<0.01$.

2.1.3 对血液学指标的影响

本项研究结果(见表 3)表明Ⅱ组小鼠 RBC 计数和 HCT 值显著低于其余各组小鼠($P<0.01$, $P<0.05$)。Ⅳ、Ⅴ组小鼠 RBC 数目和 HCT 值低于Ⅵ、Ⅶ组($P<0.05$);Ⅵ,Ⅶ组小鼠 RBC 数目、HCT 值和 HGB 含量差异无显著性($P>0.05$)。Ⅱ组小鼠 HGB 值低于Ⅰ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ组($P<0.01$, $P<0.05$);Ⅲ、Ⅵ,Ⅶ组小鼠 HGB 值分别高于Ⅰ、Ⅳ、Ⅴ组($P<0.01$)。Ⅱ、Ⅳ、Ⅴ组小鼠 HGB 值差异无显著性($P>0.05$)。

表 3 密穗马先蒿不同萃取部位对小鼠血液学指标的影响

Table 3 The effects of different extracts from *P. densispica* on hematology index of mice

分组 Groups	Ⅰ[a]	Ⅱ[a]	Ⅲ[a]	Ⅳ[a]	Ⅴ[a]	Ⅵ[a]	Ⅶ[a]
红细胞数 RBCs (1012/L)	5.51 ± 0.61	3.29 ± +0.65**	5.52 ± +0.25++	4.97 ± +2.55+	4.95 ± +1.48+	6.32 ± +0.57++	5.95 ± +0.72++§#
血红蛋白 HGB (g/L)	119.20 ± +9.23	103.14 ± +14.43*	146.00 ± +13.64**,++	107.33 ± +33.23	109.83 ± +32.00	148.38 ± +23.38**,++	147.67 ± +22.91**,++
红细胞比积 HCT (%)	0.28 ± +0.03	0.16 ± +0.03*	0.28 ± +0.02+	0.26 ± +0.11+	0.37 ± +0.11++	0.44 ± +0.09++§§#	0.42 ± +0.10++§#

注: [a] $n=5$. 与Ⅰ组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$; 与Ⅱ组比较,+ $P<0.05$,++ $P<0.01$; 与Ⅳ组比较,§ $p<0.05$,§§ $p<0.01$; 与Ⅴ组比较,# $P<0.05$。

Note: [a] $n=5$. Compared with Ⅰ group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; Compared with Ⅱ group,+ $P<0.05$,++ $P<0.01$; Compared with Ⅳ group,§ $P<0.05$,§§ $P<0.01$; Compared with Ⅴ group,# $P<0.05$.

2.2 讨论

本项研究结果表明: 通过 4 周大强度递增负荷运动以后,单纯运动组小鼠出现了神疲乏力,活动减少,食欲降低,体重减轻,甚至脱毛等症状,提示 4 周大强度递增负荷运动以后小鼠运动性疲劳模型复制成功,与文献[8]一致。从小鼠体重、食欲等疲劳相关症状和力竭游泳时间来看,密穗马先蒿正丁醇提取物和正丁醇萃余物均能明显推迟运动性疲劳的发生,提高机体的运动能力。

RBC、HGB 和 HCT 是医学界公认的诊断贫血的重要标准之一[9]. 血红蛋白的主要作用是运输氧气,供组织利用,因此它是公认的监测机体耐力运动能力的主要指标之一[10]。但是血红蛋白只有存在于红细胞内才能发挥作用,如果红细胞被破坏,血红

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

蛋白也就丧失其作用。故 RBC 也能直接影响体内物质代谢和能量代谢，从而影响人体的身体机能和运动能力。一旦红细胞受到损害，红细胞的运氧能力下降，机体容易产生疲劳，严重影响运动能力。本项研究表明通过 4 周的递增游泳运动后单纯运动组 RBC 计数、HGB 含量和 HCT 值明显低于正常对照组，这可能是造成其运动能力低下和运动性疲劳出现的主要原因之一。Ⅳ、Ⅴ组小鼠 RBC 计数、HGB 含量和 HCT 值分别低于Ⅵ、Ⅶ组，提示密穗马先蒿正丁醇提取物和正丁醇萃余物改善长期递增游泳运动小鼠贫血状态的作用明显强于其石油醚提取物和乙酸乙酯提取物。因此密穗马先蒿正丁醇提取物和正丁醇萃余物能明显推迟运动性疲劳的发生，提高机体的运动能力。同时研究结果也提示密穗马先蒿改善长时间递增大强度运动大鼠贫血状态而达到抗疲劳作用[5,6]的有效成分部位主要是其极性较大的部分，为进一步的活性成分跟踪分离提供了实验依据。

综上所述，我们得出结论：密穗马先蒿正丁醇提取物和正丁醇萃余物具有一定的抗运动性疲劳作用，其机理可能与其改善长期递增大强度运动所引起的贫血状态有关。

参考文献

1 Guan F(关放), Yu L(于兰), Yang Y(杨云). 马先蒿属植物的研究进展. *Northwest Pharm J*(西北药学杂志), 2006, 21: 142-144.

2 Liao F, Zheng RL, Gao JJ, *et al*. Retardation of skeletal muscle fatigue by the two phenylpropanoid glycosides: Verbascoside and martynoside from *Pedicularis plicata* Maxim. *Phytother Res*, 1999, 13: 621-623.

3 Li FR(李发荣), Tian JW(田京伟), Yang JX(杨建雄). Physical performance enhanced by Taibai Ginsen on exercised rats. *J Shaanxi Normal Univ, Nat Sci*(陕西师范大学学报，自科版), 2002, 30(4): 89-91.

4 Qiu J(邱娟), Qiu Y(邱毅), Yang JX(杨建雄). The Effect of pedicularis decora's extract on free radical metabolism in exhausted exercise and restored mice. *J Hanzhong Teachers Coll, Nat Sci*(汉中师范学院学报，自科版), 2003, 21(6): 73-77.

5 Wen ZJ(文质君), Chen XC(陈筱春), Zhu MJ(朱梅菊). The effect of *Pedicularis densispica* on haematological indexes in exercises mice. *J Zhanjiang Normal Coll*(湛江师范学院学报), 2006, 27(6): 93-95.

6 Wen ZJ(文质君), Chen XC(陈筱春), Zhu MJ(朱梅菊), *et al*. Effects of pedicularis densispica on morphology parameters, antioxidation and immunity capacity in erythrocyte of mice performing endurance exercises. *Chin J Rehabil Med*(中国康复医学杂志), 2008, 23: 1022-1024.

7 He SL(贺石林). Chinese Medicine Research Design and Statistical Methods(中医科研设计与统计方法). Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1988. 55-66.

8 Zhu MJ(朱梅菊), Gao SS(高顺生), Li H(李红), *et al*. Effects of acupuncturing Tsusanli on free radicals metabolism in the trained mice. *Chin J Sports Med*(中国运动医学杂志), 2001, 20: 263-265.

9 Zhao JX(赵杰修), Tian Y(田野), Cao JM(曹建民), *et al*. 运动性贫血机理和防治的研究及探讨. *Chin J Sports Med*(中国运动医学杂志), 2004, 23: 208-211.

10 Cai RL, Yang MH, Shi Y, *et al*. Antifatigue activity of phenylethanoid-rich extract from *Cistanche deserticola*. *Phytother Res*, 2010, 24: 313-315.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net