

DOI:10.19403/j.cnki.1671-1521.2017.06.005

辽东本草牌参灵片缓解体力疲劳功能实验研究

曾祥云¹,仇仁春¹,曹志强^{2*}

(1.辽宁祥云药业,桓仁 117200;2.吉林人参研究院,通化 134001)

依据卫生部 2003 年版《保健食品检验与评价技术规范》,辽宁祥云药业研制的“辽东本草牌参灵片”在辽宁省疾病预防控制中心进行了缓解体力疲劳功能实验。结果表明:试验用样品对各项试验的实验动物体重和体重增量无明显影响,0.75 g/kgBW、0.50 g/kgBW 实验组能延长小鼠游泳时间,增加小鼠肝糖原含量,并降低小鼠血清尿素含量,各实验组对小鼠血乳酸曲线下面积无明显影响。

1 材料和方法

1.1 样品

辽东本草牌参灵片由辽宁祥云药业有限公司提供,原料为棕色颗粒。企业推荐摄入量为 1.5 g/60kgBW。以原料作为受试物,蒸馏水做溶剂。

1.2 实验动物

选用辽宁长生生物有限公司繁殖的 SPE 级 18~22 g 雄性昆明种小鼠 160 只,实验动物生产许可证号为 SCXK(辽)2010-0001。无菌块状鼠料由北京华康生物科技股份有限公司提供,生产许可证号为 SCXK(京)2009-0008。

屏障系统动物实验室,温度 22±1.5℃,湿度 50%±10%,工作照度 200~280lx,人工照明 12 h,黑夜 12 h,噪音<60 dB,实验动物使用许可证号为 SYXK(辽)2011-0005。

1.3 计量选择与受试物给予方式

按企业推荐人体日摄入量的 30、20、10 倍设计,试验设 0.75 g/kgBW、0.50 g/kgBW、0.25 g/kgBW 3 个剂量组和样品溶剂对照组。分别称取受试物 3.75、2.50、1.25 g,加入蒸馏水调至 100 mL,样品配制浓度分别为 0.038、0.025、0.013 g/mL,使用时新鲜配制。灌胃方式给予样品,按体重调整灌胃容量(灌胃容量按 20 mL/kgBW 计算),每天灌胃 1 次,连续 30d。末次给样品后分别测定各项缓解体力疲劳功能指标。

1.4 主要仪器与试剂

电子分析天平(感量 0.0001 g)、电子天平(感量 0.01 g)、分光光度计、全自动生化分析仪(使用原厂定标液、质控液和试剂)、离心机、游泳箱(80cm×50cm×40cm)、乳酸测定仪、破膜液、肝糖原测定试剂盒。

1.5 试验方法

1.5.1 小鼠负重游泳试验

末次给予样品 30 min 后,称体重,每只鼠尾根部负荷 5%体重铅皮,置于水深 30±1 cm、水温 25±1℃游泳箱中游泳,不时搅动水,使小鼠四肢保持运动。记录自游泳开始至死亡时间(min)。

1.5.2 肝糖原测定

末次给予样品 30 min 后处死,取肝脏,清洗吸干,准确称取 75 mg。加入碱液 225 μL,沸水浴煮 20 min,流水冷却。加蒸馏水 7.2 mL,制备成 1%肝糖原检测液。空白管加蒸馏水 1.0 mL,测定管加蒸馏水 0.9 mL 及 1%肝糖原检测液 0.1 mL,标准管加 0.01 mg/mL 标准液 1.0 mL,各管分别加显色液 2.0 mL,混匀后置沸水浴中煮 5 min,冷却后于波长 620 nm 处比色,1 cm 光径,用空白管调零,测定各管 OD 值,计算肝糖原含量:

肝糖原含量 (mg/g)=测定管 OD 值/标准管 OD 值×标准管含量×10/1.11

标准管含量为 0.01 mg;

10 为稀释倍数;

1.11 为测得的葡萄糖含量换算成糖原含量的系数。

1.5.3 血乳糖测定

末次给予样品 30 min 后,至于水深 30±1 cm、水温 30±1℃游泳箱中游泳,不时搅动水,使小鼠四肢保持运动。第 10 min 取出。分别于游泳前、游泳后立即、游泳后休息 20 min 从眼内眦准确采血 20 μL,假如 40 μL 破膜液中,立即充分振荡破碎细胞,用乳酸仪测定乳血酸含量,计算血乳曲线下面积。

1.5.4 血清尿素测定

末次给予样品 30 min 后,至于水深 30±1 cm、水温 30±1℃游泳箱中游泳,不时搅动水,使小鼠四肢保持运动。第 90 min 取出,休息 60 min 后摘除眼球采血。置 4℃冰箱 3 h,血凝固后 2 000 r/min 离心 15 min,取血清备用。用 Beckman-Coulter CX5 PRO 型全自动生化分析仪测定血清尿素含量。

1.6 试验数据统计

对计量资料,做多样本方差齐性检验(Bartlett 法)和各实验组与溶剂对照组的双样本方差齐性检

作者简介:曾祥云,男,主管中药师,主要从事人参、西洋参栽培、加工和人参产品开发。

* 通信作者:曹志强,男,研究员,主要从事人参、西洋参研究、标准制定,产品研发,规范化种植。E-mail:th5161@163.com.

验。方差齐,多样本比较采用单因素方差分析,各实验组与溶剂对照组比较用最小显著差法、Dunnett 法、新复极差法;方差不齐,采用近似 F 检验和双样本异方差 t 检验或进行变量转换(百分率资料用反正弦函数转换后进行 F 检验)或采用秩和检验(Wilcoxon 两样

本比较法)。

1.7 结果判定

负重游泳实验结果阳性,且血乳酸、血清尿素、肝糖元/肌糖元三项生化指标中任两项指标阳性,可判定该受试样品具有缓解体力疲劳功能的作用。

表 1 小鼠负重游泳试验体重测量结果 (单位:g)

剂量 g/kgBW	动物数	初始体重		试验末体重		体重增重	
		$\bar{X}$	$\pm$ SD	$\bar{X}$	$\pm$ SD	$\bar{X}$	$\pm$ SD
0.75	10	21.22	± 0.50	43.00	± 4.57	21.78	± 4.34
0.50	10	21.22	± 0.40	42.70	± 2.63	21.48	± 2.51
0.25	10	21.15	± 0.54	43.35	± 2.22	22.20	± 2.48
溶剂对照	10	21.16	± 0.45	42.52	± 2.93	21.36	± 3.12

表 2 小鼠负重游泳试验游泳时间测定结果

剂量 g/kgBW	动物数 只	游泳时间 (min)	
		$\bar{X}$	$\pm$ SD
0.75	10	24.80	± 10.97
0.50	10	11.80	± 4.52
0.25	10	8.60	± 7.65
溶剂对照	10	4.60	± 1.43

2 结果与讨论

2.1 小鼠肝糖原测定结果

由表 3 可见,各实验组体重、体重增重与样品溶

剂对照组比较,无显著性差异($P>0.05$);由表 4 可见,0.75 g/kgBW、0.50 g/kgBW 实验组小鼠肝糖原含量显著高于样品溶剂对照组($P<0.05$)。

表 3 小鼠肝糖原试验体重测量结果 (单位:g)

剂量 g/kgBW	动物数 只	初始体重		试验末体重		体重增重	
		$\bar{X}$	$\pm$ SD	$\bar{X}$	$\pm$ SD	$\bar{X}$	$\pm$ SD
0.75	10	21.15	± 0.51	41.24	± 3.45	20.09	± 3.35
0.50	10	21.17	± 0.47	39.61	± 2.71	18.44	± 2.54
0.25	10	21.23	± 0.50	42.07	± 3.34	20.84	± 3.42
溶剂对照	10	21.19	± 0.53	41.33	± 2.50	20.14	± 2.43

表 4 小鼠肝糖原含量测定结果

剂量 g/kgBW	动物数 只	肝糖原含量 (mg/g 组织)	
		$\bar{X}$	$\pm$ SD
0.75	10	83.19	± 14.05
0.50	10	91.60	± 25.51
0.25	10	74.32	± 17.87
溶剂对照	10	66.76	± 8.85

2.2 小鼠血乳酸测定结果

由表 5 可见,各实验组小鼠体重、体重增重与样品溶剂对照组比较,无显著性差异($P>0.05$);由表 6

可见,各实验组小鼠血乳酸曲线下面积与样品溶剂对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)。

表 5 小鼠血乳试验体重测量结果 (单位:g)

剂量 g/kgBW	动物数 只	初始体重		P 值	试验末体重		P 值	体重增重		P 值
		$\bar{X}$	$\pm$ SD		$\bar{X}$	$\pm$ SD		$\bar{X}$	$\pm$ SD	
0.75	10	21.13	± 0.51	0.82	43.12	± 3.27	0.76	21.99	± 2.98	0.73
0.50	10	21.14	± 0.48	0.85	43.34	± 3.05	0.61	22.20	± 2.96	0.61
0.25	10	21.20	± 0.49	0.93	42.20	± 2.70	0.67	21.00	± 2.82	0.65
溶剂对照	10	21.18	± 0.43		42.74	± 1.90		21.56	± 2.14	

表 6 小鼠血乳试验体重测量结果 (单位:g)

剂量	动物数	血 乳 酸 值 (nmol/L)								血乳酸曲线下面积	P 值		
		游泳前			游泳后 0min		游泳后 20min						
		$\bar{X}$	$\pm$	SD	$\bar{X}$	$\pm$	SD	$\bar{X}$	$\pm$			SD	
g/kgBW	只												
0.75	10	1.04	$\pm$ 0.87		2.06	$\pm$ 0.43		0.68	$\pm$ 0.14		128.69	$\pm$ 19.49	0.17
0.50	10	0.82	$\pm$ 0.51		1.97	$\pm$ 0.28		0.79	$\pm$ 0.19		124.49	$\pm$ 14.09	0.10
0.25	10	0.74	$\pm$ 0.31		2.05	$\pm$ 0.38		0.70	$\pm$ 0.15		124.04	$\pm$ 18.37	0.09
溶剂对照	10	1.14	$\pm$ 0.80		2.27	$\pm$ 0.85		1.00	$\pm$ 0.56		149.15	$\pm$ 57.40	

2.3 小鼠血清尿素的测定结果

由表 7 可见,各实验组小鼠体重、体重增重与样品溶剂对照组比较,无显著性差异($P>0.05$);由表 8

可见,0.75 g/kgBW、0.50 g/kgBW 实验组血清尿素含量显著低于样品溶剂对照组($P<0.01$)。

表 7 小鼠血清尿素试验体重测量结果 (单位:g)

剂量 g/kgBW	动物数 只	初始体重		P 值	试验末体重		P 值	体重增重		P 值
		$\bar{X}$	$\pm$ SD		$\bar{X}$	$\pm$ SD		$\bar{X}$	$\pm$ SD	
0.75	10	21.15	± 0.58	0.65	43.11	± 2.80	0.32	21.96	± 2.61	0.27
0.50	10	21.20	± 0.45	0.82	43.31	± 2.23	0.25	22.11	± 2.31	0.23
0.25	10	21.13	± 0.46	0.58	43.65	± 3.25	0.16	22.52	± 3.25	0.13
溶剂对照	10	21.25	± 0.42		41.81	± 3.13		20.56	± 3.02	

表 8 小鼠血清尿素含量测定结果

剂量 g/kgBW	动物数 只	肝糖原含量 (mg/g 组织)		P 值
		$\bar{X}$	$\pm$ SD	
0.75	10	10.52	± 1.64	<0.01
0.50	10	10.99	± 1.51	<0.01
0.25	10	12.36	± 0.88	0.39
溶剂对照	10	12.95	± 1.89	

3 小结

试验结果表明,试验用样品对各项试验的实验动物体重和体重增重无明显影响,0.75 g/kgBW、0.50 g/kgBW 实验组能延长小鼠游泳时间,增加小鼠肝糖原

含量,并能降低小鼠血清尿素含量,各实验组对小鼠血乳酸曲线下面积无明显影响。