

## 拟黑多刺蚁、牡蛎提取物抗疲劳作用研究\*

李品<sup>1</sup>, 韦桂宁<sup>2</sup>, 李冬梅<sup>2</sup>, 何俊慧<sup>2</sup>, 吴龙<sup>3</sup>, 龙腾云<sup>1\*\*</sup>

(1. 广西云康健健康管理股份有限公司, 广西南宁 530023; 2. 广西壮族自治区中医药研究院, 广西南宁 530022; 3. 广西南宁臻远生物科技有限公司, 广西南宁 530021)

**摘要:**探讨拟黑多刺蚁(*Polyrhachis vicina* Roger)、牡蛎(*Ostreagigastnunb*)提取物(蚁蛎提取物)抗疲劳的作用。选取正常雄性昆明种小鼠, 随机分为空白对照组、蚁蛎提取物低、中、高剂量组, 灌胃给药 30 d, 每天 1 次, 观察小鼠负重游泳时间, 血清尿素(UREA)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)水平及超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性, 研究蚁蛎提取物抗疲劳作用。结果发现, 与空白对照组相比, 蚁蛎提取物组小鼠负重游泳时间显著延长( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 蚁蛎提取物低、高剂量组小鼠游泳后小鼠血清 UREA 浓度显著降低( $P < 0.05$ ); 蚁蛎提取物各剂量组小鼠血清中的 MDA 含量和 GSH 活性均无显著性差异( $P > 0.05$ ), 但 MDA 含量有下降的趋势, GSH 活性有随着蚁蛎提取物浓度的提高而升高的趋势; 蚁蛎提取物高剂量组可显著提高小鼠血清中的 SOD 活性( $P < 0.05$ )。蚁蛎提取物具有一定抗疲劳的作用, 其机制可能与其抗氧化应激活性有关。

**关键词:**拟黑多刺蚁 牡蛎 提取物 抗疲劳 小鼠

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2019)05-0583-05



微信扫一扫, 与作者在线交流(OSID)

### 0 引言

随着社会发展速度的加快, 人们的生活、工作节奏也不得不随之加快, 不仅是从事体力劳动的人群容易出现“身体疲劳”的情况, 越来越多从事脑力劳动的人群也出现一种“心理疲劳”的情况, 这些都已经成为影响现代人健康的主要原因。疲劳是一种很复杂的生理现象, 当脑力或者体力工作时间和程度达到所能承受的最大限度时, 可能导致身体工作机能下降。如

果机体长时间处于疲劳的状态得不到恢复, 可能会影响人类的正常生活质量、工作效率乃至影响身体各器官健康状态, 致使生活质量、工作效率和免疫力降低, 从而引起生理和心理上的疾病。

拟黑多刺蚁(*Polyrhachis vicina* Roger)为蚁科昆虫的干燥全体, 含有不饱和脂肪酸等营养成分, 药理活性广泛<sup>[1-3]</sup>。牡蛎(*Ostreagigastnunb*)为牡蛎科(*Ostreae*)动物牡蛎及其近缘动物的全体, 含有牡蛎肽等活性成分, 药理活性显著<sup>[4-5]</sup>。在民间, 两者经食用酒精精制, 组合, 服用, 可用于抗疲劳。为探讨拟黑

\* 国家自然科学基金项目(81360653)和南宁市科技型中小企业技术创新资金项目(20183109)资助。

#### 【作者简介】

李品(1982—), 男, 工程师, 主要从事海洋生物药物开发研究, E-mail: 29900616@qq.com。

#### 【\*\*通信作者】

龙腾云(1971—), 男, 高级工程师, 主要从事海洋生物药物开发研究, E-mail: 3204584213@qq.com。

#### 【引用本文】

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20191024.007

李品, 韦桂宁, 李冬梅, 等. 拟黑多刺蚁、牡蛎提取物抗疲劳作用研究[J]. 广西科学, 2019, 26(5): 583-587.

LI P, WEI G N, LI D M, et al. Anti-fatigue effect of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* in mice [J]. Guangxi Sciences, 2019, 26(5): 583-587.

多刺蚁酒精提取物、牡蛎酒精提取物(蚁蛎提取物)抗疲劳作用及其可能机制,本研究将蚁蛎提取物按照民间应用经验组方,通过小鼠抗疲劳实验,观察小鼠负重游泳时间,血清尿素(UREA)、丙二醛(Malondialdehyde,MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase,GSH-Px)水平及超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)活性,并探讨蚁蛎提取物抗疲劳作用的可能机制,为将其开发成为抗疲劳保健品原材料提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 实验动物

雄性昆明种小鼠,体重 18~22 g,购自广西医科大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK 桂 2014-0002。

#### 1.1.2 仪器及试剂

Synergy H1 型多功能检测仪(美国 Biotek 公司);3K15 型医用离心机[曦玛离心机(扬州)有限公司]。

拟黑多刺蚁活性组分由广西中医药研究院中药药理所制备;SOD 试剂盒、MDA 试剂盒及 GSH-Px 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 蚁蛎提取物的制备

选取干燥的拟黑多刺蚁虫体,加入可食用酒精[95%乙醇(V:V)],按蚂蚁和乙醇 1:6(kg·L<sup>-1</sup>)的比例混合搅拌均匀,每次回流提取时间为 1 h,一共回流提取 3 次,将 3 次提取后所得的提取液混匀浓缩得浓缩液,浓度为含生药量 0.9~1.2 g·mL<sup>-1</sup>;选取牡蛎虫体,加入可食用酒精(95%乙醇(V:V)),按牡蛎虫体和蒸馏水 1:6(kg·L<sup>-1</sup>)的比例混合搅拌均匀,每次回流提取时间为 1 h,一共回流提取 3 次,将 3 次提取后所得的提取液混匀浓缩得浓缩液,浓度为含生药量 0.9~1.2 g·mL<sup>-1</sup>。蚁蛎提取物高剂量,按生药量拟黑多刺蚁 4 g、牡蛎 5 g·kg<sup>-1</sup>(体重);中剂量,按生药量拟黑多刺蚁 2 g、牡蛎 2.5 g·kg<sup>-1</sup>(体重);低剂量,按生药量拟黑多刺蚁 1 g、牡蛎 1.25 g·kg<sup>-1</sup>(体重)。即相当于按照生药重量比,拟黑多刺蚁(g 生药):牡蛎(g 生药)=4:5。

#### 1.2.2 小鼠负重游泳实验<sup>[6]</sup>

选取昆明种小鼠共 40 只,雄性,体重 18~22 g,随机分为 4 组,每组各 10 只小鼠,分别为蚁蛎提取物

低剂量组、蚁蛎提取物中剂量组、蚁蛎提取物高剂量组以及空白对照组。采用灌胃给药的方法按体重给药,空白对照组给予同样体积的蒸馏水,不间断灌胃 30 d,在第 30 天灌胃 30 min 后,将重量为小鼠 8%体重的铅皮绑在每只小鼠的尾巴根部,游泳箱中加入水,游泳箱中水的温度稳定在 25℃左右、水的高度稳定在 30 cm 左右,这样可以防止水温过冷或过热以及小鼠的脚触碰游泳箱底部造成实验结果误差。将小鼠放置于游泳箱中,从小鼠开始游泳起,通过观察小鼠游泳失败的情况来判断小鼠的疲劳程度,记录小鼠负重游泳时间。

#### 1.2.3 血清尿素(UREA)测定实验<sup>[6]</sup>

选取昆明种小鼠共 40 只,雄性,体重 18~22 g,随机分 4 组,每组各 10 只小鼠,分别为蚁蛎提取物低剂量组、蚁蛎提取物中剂量组、蚁蛎提取物高剂量组以及空白对照组。采用灌胃给药的方式按体重给药,空白对照组给予同样体积的蒸馏水,不间断灌胃 30 d,在第 30 天灌胃 30 min 后,把水注入游泳箱中,水的温度稳定在 25℃左右、水的高度稳定在 30 cm 左右,把小鼠放入游泳箱中让其不负重游泳 90 min。到时间后把小鼠捞出让其休息 60 min,通过小鼠眼球取血方式取血,取血后将小鼠处死。所得全血用不加抗凝剂的 1.5 mL EP 管收集,在 4℃冰箱放置 3 h 待血液凝固后以 3 500 r/min 离心 15 min,取血清按 UREA 测定试剂盒说明书操作,检测各组小鼠的血清中 UREA 浓度。

#### 1.2.4 SOD、GSH-Px、MDA 含量测定实验<sup>[6]</sup>

选取昆明种小鼠共 40 只,雄性,体重 18~22 g,随机分 4 组,每组各 10 只小鼠,分别为蚁蛎提取物低剂量组、蚁蛎提取物中剂量组、蚁蛎提取物高剂量组以及空白对照组。采用灌胃给药的方式按体重给药,空白对照组给予同样体积的蒸馏水,不间断灌胃 30 d,在第 30 天灌胃 30 min 后,称量每只小鼠体重。通过小鼠眼球取血方式取血,所得全血用不加抗凝剂的 1.5 mL EP 管收集,在 4℃冰箱放置 3 h 待血液凝固后以 3 500 r/min 离心 15 min,取血清,按 SOD 测试盒、GSH-Px 测试盒和 MDA 测试盒分别检测各组小鼠血清中的 SOD 活性能力、GSH-P 活性和 MDA 含量。

#### 1.2.5 分析方法

运用 SPSS17.0 软件和 Excel 分析处理数据,计算结果用( $\bar{x} \pm s$ )表示,各组间采用 One-way ANOVA 进行统计学分析, $P < 0.05$  表示具有统计学

意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 蚁蛭提取物对小鼠负重游泳时间的影响

与空白对照组相比, 蚁蛭提取物各剂量组小鼠的负重游泳时间显著延长, 差异有统计学意义(表 1)。

表 1 蚁蛭提取物对小鼠负重游泳时间的影响 ( $x \pm s, n=10$ )  
Table 1 The effects of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* on weight-loading swimming time in mice ( $x \pm s, n=10$ )

组别 Group	负重游泳时间 Weight-loading swimming time (min)
空白对照组 Blank control group	5.24 ± 2.61
低剂量组 Low dose group	9.22 ± 2.94**
中剂量组 Medium dose group	8.25 ± 3.03*
高剂量组 High dose group	12.11 ± 6.72**

注: 与空白对照组比较, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$   
Note: Compared with blank control group, \* and \*\* indicate  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$

### 2.2 蚁蛭提取物对小鼠血清中尿素(UREA)浓度的影响

与空白对照组相比, 除蚁蛭提取物中剂量组外, 低、高剂量组小鼠定时游泳 90 min 后 UREA 浓度显著性降低 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

表 3 蚁蛭提取物对小鼠 GSH-Px 活性、MDA 含量和 SOD 活性能力的影响 ( $x \pm s, n=10$ )

Table 3 The effects of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* on the activity of GSH-Px and SOD, and the MDA contents in mice ( $x \pm s, n=10$ )

组别 Group	GSH-Px 含量 GSH-Px content ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	MDA 含量 MDA content ( $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	SOD 活性能力 SOD activity ( $\mu \cdot \text{mL}^{-1}$ )
空白对照组 Blank control group	488.33 ± 157.79	11.68 ± 0.70	4.90 ± 0.074
低剂量组 Low dose group	523.13 ± 97.94	10.12 ± 3.86	4.88 ± 0.340
中剂量组 Medium dose group	562.86 ± 144.68	11.28 ± 0.31	4.82 ± 1.070
高剂量组 High dose group	646.43 ± 276.85	10.03 ± 4.47	5.34 ± 0.440*

注: 与空白对照组比较, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$   
Note: Compared with blank control group, \* and \*\* indicate  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$

表 2 蚁蛭提取物对小鼠血清中尿素(UREA)浓度的影响 ( $x \pm s, n=10$ )

Table 2 The effects of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* on the concentration of UREA in serum of mice ( $x \pm s, n=10$ )

组别 Group	游泳后 UREA 浓度 Concentration of UREA after swimming ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
空白对照组 Blank control group	12.52 ± 1.92
低剂量组 Low dose group	10.69 ± 1.40*
中剂量组 Medium dose group	12.15 ± 1.52
高剂量组 High dose group	10.55 ± 1.08*

注: 与空白对照组比较, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$   
Note: Compared with blank control group, \* and \*\* indicate  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$

### 2.3 蚁蛭提取物对小鼠 GSH-Px 活性、MDA 含量和 SOD 活性能力的影响

与空白对照组相比, 蚁蛭提取物各剂量组小鼠血清中的 MDA 含量没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但是给药组小鼠的 MDA 含量有下降的趋势; 与空白对照组相比, 蚁蛭提取物小鼠血清中的 GSH-Px 含量没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但是给药组小鼠的 GSH-Px 活性有随着活性组分浓度的提高而升高的趋势; 蚁蛭提取物高剂量组小鼠 SOD 活性能力与空白对照组相比显著性提高 ( $P < 0.05$ ), 低、中剂量组小鼠 SOD 活性能力与空白对照组相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

疲劳是机体整体功能水平下降的外在表现,是多因素作用的结果。其产生与运动过程中体内中枢神经系统的影响有关,体内多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)、氨基丁酸(GABA)、乙酰胆碱(Ach)等神经递质水平的变化可影响中枢神经系统的功能,导致运动性疲劳的产生<sup>[7-10]</sup>,某些心理及神经生理因素可促使运动性疲劳的产生。疲劳的产生,还与能源物质、代谢产物、代谢调节物质、细胞分子水平的形态及功能的改变等因素有关<sup>[11-13]</sup>。蚁蛭提取物为拟黑多刺蚁、牡蛭醇提物的组合物,可显著延长小鼠负重游泳时间,显著降低小鼠游泳后小鼠体内 UREA 浓度,具有一定抗疲劳的作用。拟黑多刺蚁富含多种活性成分,具有广泛的药理活性,特别在免疫调节、抗疲劳等方面具有和良好的效果,蚂蚁水提取物可提高乳酸脱氢酶、超氧化物歧化酶活力,使得代谢产物的分解加快,从而小鼠在耐力运动中坚持更久的时间<sup>[14]</sup>。牡蛭含有牡蛭肽、牡蛭多糖等活性成分,具有良好的抗疲劳作用<sup>[15-17]</sup>。两者配伍,具有更显著的抗疲劳作用,且用量比单味用量少。蚁蛭提取物可显著提高小鼠血清中的 SOD 活性能力,且具有提高 GSH 水平、降低小鼠血清中 MDA 含量的趋势。SOD 具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质,它可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,复原因自由基造成的对细胞伤害。蚁蛭提取物抗疲劳作用可能与其通过对肌体氧化应激的调节有关。

### 4 结论

本研究主要探讨蚁蛭提取物抗疲劳作用及其可能机制,研究结果表明:蚁蛭提取物具有一定的抗疲劳作用,可能与其抗氧化应激活性有关,详实的分子机制还待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 韦桂宁,苏启表,何飞,等.拟黑多刺蚁乙醇提取物中降低小鼠血清尿酸水平活性部位的筛选与化学成分分析[J].中国药理学与毒理学杂志,2013,27(4):673-677.
- [2] WEI G N, CHU S F, SU Q B, et al. Antidepressant-like effect of active fraction of *Polyrhachis vicina* Roger in a rat depression model [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 38(1): 12-21.
- [3] SU Q B, SU H, NONG Z H, et al. Hypouricemic and nephroprotective effects of an active fraction from *Polyrhachis vicina* Roger on potassium oxonate-induced hyperuricemia in rats [J]. Kidney and Blood Pressure Research, 2018, 43(1): 220-233.
- [4] 李亚,王通,王广飞,等.牡蛭肽对肾阳虚大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴调节作用的研究[J].食品工业科技,2019,40(12):291-294.
- [5] 张可佳,张胜男,祁艳霞,等.牡蛭 ACE 抑制肽对原发性高血压大鼠的降压效果及其性质研究[J].大连海洋大学学报,2018,33(6):788-794.
- [6] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[S].[S.l.:s.n.]2003:87-93.
- [7] MCMORRIS T, BARWOOD M, CORBETT J. Central fatigue theory and endurance exercise: Toward an interoceptive model [J]. Neurosci & Biobehavioral Reviews, 2018, 93: 93-107.
- [8] CORDEIRO L M S, RABELO P C R, MORAES M M, et al. Physical exercise-induced fatigue: The role of serotonergic and dopaminergic systems [J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2017, 50 (12): e6432.
- [9] TUNG Y T, WU M F, LEE M C, et al. Antifatigue activity and exercise performance of phenolic-rich extracts from *Calendula officinalis*, *Ribes nigrum*, and *Vaccinium myrtillus* [J]. Nutrients, 2019, 11(8): 1715.
- [10] BROWNE R W, JAKIMOVSKI D, ZILLOTTO N, et al. High-density lipoprotein cholesterol is associated with multiple sclerosis fatigue: A fatigue-metabolism nexus? [J]. Journal of Clinical Lipidology, 2019, (19): 30215-30216.
- [11] AGUDELO L, FERREIRA D M S, DADVAR S, et al. Skeletal muscle PGC-1 $\alpha$  reroutes kynurenine metabolism to increase energy efficiency and fatigue-resistance [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 2767.
- [12] PROSCHINGER S, FREESE J. Neuroimmunological and neuroenergetic aspects in exercise-induced fatigue [J]. Exerc Immunol Rev, 2019, 25: 8-19.
- [13] REGUÉ L, JI F, FLICKER D, et al. IMP2 Increases mouse skeletal muscle mass and voluntary activity by enhancing autocrine insulin-like growth factor 2 production and optimizing muscle metabolism [J]. Molecular and Cellular Biology, 2019, 39(7): e00528-18.
- [14] 马力,薛鹏,沈建宇.蚂蚁水提取物抗疲劳的研究[J].中国应用生理学杂志,2012,28(5):443-444,453.
- [15] 易传祝,周月婵,刘上,等.牡蛭提取物软胶囊缓解体力疲劳功能研究[J].实用预防医学,2016,23(4):493-495.

[16] 叶建仔,熊静宇,马一明. 牡蛎提取物对大鼠运动能力及糖贮备的影响[J]. 长江大学学报:自然科学版, 2013,10(18):80-82,1-2.

[17] 代春美,廖晓宇,叶祖光. 海洋中药牡蛎的化学成分、药理活性及开发应用[J]. 天然产物研究与开发, 2016,28(3):471-474,437.

## Anti-fatigue Effect of the Extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* in Mice

LI Pin<sup>1</sup>, WEI Guining<sup>2</sup>, LI Dongmei<sup>2</sup>, HE Junhui<sup>2</sup>, WU Long<sup>3</sup>, LONG Tengyun<sup>1</sup>

(1. Yunkangjian Healthcare Management Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530023, China; 2. Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China; 3. Guangxi Nanning Zhenyuan Biological Technology Co., LTD, Nanning, Guangxi, 530021, China)

**Abstract:** The anti-fatigue effect of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* extract was investigated. Normal male Kunming mice were randomly divided into blank control group, the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* low-dose group, medium-dose group and high-dose group. The mice were intragastrically administered for 30 d, once a day. The loaded swimming time, serum urea (UREA), Malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px) levels and superoxid dismutase (SOD) activity were detected to study the anti-fatigue effect of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb*. The active ingredients of the extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* increased the levels of glycogen in liver, and the levels of SOD and GSH-Px in the serum tended to increase. However, the contents of MDA and UREA after swimming were decreased. The results showed that compared with the blank control group, the loaded swimming time of mice in the *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* extract group was significantly prolonged ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The contents of UREA after swimming was significantly decreased in the low and high-dose groups ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in MDA content and GSH activity between the mice serum of each dose group of the *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* extract ( $P > 0.05$ ), but the MDA content had a downward trend. The GSH activity tended to increase with increasing concentration of the *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* extract. The high dose group of anthill extract could significantly increase the SOD activity in the serum of mice ( $P < 0.05$ ). The activity of SOD in the serum of mice was increased significantly in the high dose group of the *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* extract ( $P < 0.05$ ). The extract of *Polyrhachis vicina* Roger and *Ostreagigastnunb* has certain anti-fatigue effects, and its mechanism may be related to its anti-oxidative stress activity.

**Key words:** *Polyrhachis vicina* Roger, *Ostreagigastnunb*, extract, anti-fatigue, mice