

人参皂苷 Rg1 抗氧化能力的实验研究*

★ 赵自明¹ 潘华山² 冯毅翀^{2**} (1. 广东省中医研究所 广州 510095; 2. 广州中医药大学 广州 510006)

摘要:目的:观察人参皂苷 Rg1 对运动性疲劳模型大鼠血清、骨骼肌和肝丙二醛(MDA)含量,红细胞、骨骼肌和肝超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。方法:将 30 只雄性 SD 大鼠,随机均分为人参皂苷 Rg1 组(50 mg/kg)、模型组(0.1 ml/kgN. S.)和空白组(0.1 ml/kgN. S.),给药组和模型组于灌胃 1 h 后进行中等运动强度的水平跑台运动,每天 1 次,连续 14 天。随后取材、检测上述指标。结果:与模型组比较,人参皂苷 Rg1 组血清、骨骼肌和肝 MDA 含量均有显著降低(均有 $P < 0.01$);红细胞、骨骼肌和肝 SOD 活性均明显升高(均有 $P < 0.01$)。结论:人参皂苷 Rg1 抗运动性疲劳的效应,可能与其提高运动性疲劳大鼠的抗氧化能力,清除运动产生的过量自由基及过氧化脂质物有关。

关键词:人参皂苷 Rg1;运动性疲劳;大鼠;丙二醛;SOD

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

Experimental Studies on the Antioxidant Capacity of Ginsenoside Rg1

ZHAO Zhi-ming¹, PAN Hua-shan¹, FENG Yi-chong²

1. Guangdong Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095;

2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006

Abstract: Objective: This report describes the functional system of Ginsenoside Rg1 to resist oxidation based on the experiment on the effects of Ginsenoside Rg1 on SOD activity and MDA content of the rats with exercise-induced fatigue. Methods: In the experiment, thirty male SD rats were divided into 3 groups randomly: Ginsenoside Rg1 group, Model group and Control group. The rats in Ginsenoside Rg1 group were lavaged with Ginsenoside Rg1 once a day while the rats in Model and Control groups were lavaged with normal saline of the same quantity. After one hour the rats of Ginsenoside Rg1 and Model groups did treadmill exercise with medium intensity for 20 minutes at the speed of 15m/min and with a slope of 0 degree, and after 40-minute break did it for another 20 minutes. Fourteen days later, MDA content and SOD activity have been tested. Results: The result has shown: (1) SOD activity of erythrocyte, muscle tissue and liver tissue in Ginsenoside Rg1 group is obviously higher than that in Model group, $P < 0.01$; (2) MDA content of serum, muscle tissue and liver tissue in Ginsenoside Rg1 group is obviously lower than that in Model group, $P < 0.01$. Conclusion: In conclusion, Ginsenoside Rg1 is able to resist fatigue because it can improve the antioxidant capacity of the rats with exercise-induced fatigue and decrease free radical and Lipid Peroxide.

Key words: Ginsenoside Rg1; Antioxidation; Exercise-induced Fatigue; Experimental Studies

运动性疲劳的研究已有上百年的历史,不同的历史使其不同研究者从不同侧面对运动性疲劳进行了研究^[1]。通常认为运动过程中,线粒体所产生的

大量 ROS(活性氧)超过了抗氧化酶及非酶系统的保护作用,从而对线粒体造成氧化损伤,进而影响运动器官(骨骼肌)及主要脏器(心、肝等)功能,是导

* 项目基金:广东省科技计划项目(2006B35604006)

** 通讯作者:冯毅翀(1978-),男,讲师,医学博士,从事运动医学研究。详细地址:广东省广州市番禺区大学城外环东路 232 号广州中医药大学体育健康学院(510006) Email: FFyichong@163.com, Tel: 13760849639

致运动性疲劳发生的重要原因^[2]。本文拟通过观察人参皂苷对运动疲劳大鼠氧化应激相关物质的检测,初步阐明人参皂苷 Rg1 的抗疲劳效应及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,180 ~ 220 g,广州中医药大学实验动物中心提供,实验动物使用许可证号:SYXK(粤)2008-0085,使用动物质量合格证明编号:0031686。于广州中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室内进行实验,常规分笼喂养,自由饮水进食,动物室内温度 21 ~ 24 ℃,相对湿度 40% ~ 55%,室内空气流通,光照时间 12 h。

1.2 药品、试剂与仪器

实验药品人参皂苷 Rg1 由上海同田生物技术有限公司提供,临用时用生理盐水按 0.1 ml/kg 体重配成合适浓度后给药;MDA 含量测定试剂盒、SOD 活性测定试剂盒、组织蛋白含量测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。上述药品和试剂均在有效期内使用。仪器主要包括 TDL-5-A 型低速离心机、ZH-PT 动物实验跑台、电动匀浆机和 722 分光光度计。

1.3 运动疲劳模型的复制与分组方法

30 只雄性 SD 大鼠,随机均分为人参皂苷 Rg1 组(50 mg/kg)、模型组(等容量生理盐水)和空白组(等容量生理盐水),每天早上灌胃 1 h 后将空白组放回笼中常规喂养,人参皂苷 Rg1 组和模型组大鼠则进行中等运动强度的水平跑台运动,速度为 15 m/min,坡度 0°,跑台 20 min,间歇 40 min,再跑台 20 min,每天一次,连续 14 天。所有大鼠每两天称重一次,按照新的重量确定给药量。

1.4 取材、样本制备

(1) 抗凝血与血清制备:于末次运动后,立即断

颈处死大鼠,取血 5 ml,分别加入加的 1% 肝素抗凝剂和未加抗凝剂的试管中,每管不少于 1 ml,抗凝管加入血液后轻轻摇动,确保血液不凝结成块;不加抗凝剂血液于 4 ℃ 冰箱静置保存 2 h 后,3 000 转/min,离心 10 min,取上清液,即为血清,于 4 ℃ 保存上述抗凝血及血清备用。(2) 骨骼肌与肝脏取材与处理:于左后肢相同部位腓肠肌取二块骨骼肌,约 6 g 左右;剖腹取出肝脏一块,同样约 6 g 左右。4 ℃ 生理盐水清洗骨骼肌和肝脏后,滤纸干燥,立即放入清洁干燥密闭小瓶中,于 -20 ℃ 保存备用。取上述冻存肝和骨骼肌组织,按试剂盒合用说明书各称取 50 mg,加适量生理盐水,于冰水中用电动匀浆机制成 1% 肝细胞和骨骼肌细胞匀浆。

1.5 测定方法

血清、骨骼肌和肝丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法,红细胞、骨骼肌和肝 SOD 活性采用黄嘌呤氧化酶法,组织蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法,均严格按试剂盒使用说明书进行操作;其中红细胞 SOD 活性测定是需溶解红细胞:取肝素抗凝血 50 μ l,冲入盛有 2 ml 的生理盐水的带刻度离心管中,2 000 转/分,离心 3 min,弃上清液,加预冷双蒸水 0.2 ml,红细胞溶解后加入 95% 乙醇 0.1 ml,振荡 30 秒后,加氯仿 0.1 ml,充分混匀 1 min,3 500 转/min 离心 8 min,取上清液 20 μ l 进行红细胞 SOD 活力测定。

1.6 统计方法

所有实验数据以均数加减速标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间均值比较采用 SNK 法,方差不齐时组间均值两两比较采用 Dunnett T3 法。以上数据均由 SPSS15.0 进行统计学分析。 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

表 1 三组大鼠红细胞 SOD 活性和血清 MDA 含量的比较

分组	SOD 活性/U·mg ⁻¹			MDA/nmol·L ⁻¹		
	红细胞	骨骼肌	肝	血清	骨骼肌	肝
Rg1 组	5830.08 ± 704.06 ^{***}	13.86 ± 0.64 ^{**}	2.54 ± 0.17 ^{**}	11.4939 ± 3.0946 ^{***}	1.65 ± 0.30 ^{**}	0.75 ± 0.08 ^{**}
模型组	3443.50 ± 901.61	11.52 ± 0.77	1.84 ± 0.28	19.5122 ± 1.8345	4.09 ± 0.55	0.90 ± 0.13
空白组	7756.39 ± 531.78 ^{**}	15.87 ± 0.71 ^{**}	3.154 ± 0.30 [*]	4.1057 ± 1.3881 ^{**}	0.95 ± 0.41 ^{**}	0.56 ± 0.10 ^{**}

注:与模型组比较,^{*} $P < 0.01$,与模型组比较,^{*} $P < 0.01$,与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

3 讨论

3.1 运动性外周疲劳的特点

1982 年第五届国际运动生理化学会议将运动性疲劳定义为:“机体生理过程不能维持其机能在一

特定水平上和/或不能维持预定的运动强度”^[4]。运动性疲劳的发生机制十分复杂,可以发生在直接参与运动的部位,主要涉及骨骼肌及其与神经联系的结构部分,也可以发生在控制运动的中枢神经系

统。通常按照其发生的部位和机制不同分为外周疲劳和中枢疲劳。^[5]外周疲劳发生于神经肌肉接点至骨骼肌收缩蛋白。解释其机理的学说主要有“衰竭学说”、“堵塞学说”、“内环境稳定失调学说”和“保护性抑制学说”等等^[6]。其中自由基学说提示,生理状态下因为机体酶促系统和非酶促系统的存在能组织 ROS 的过度产生或抑制其对线粒体膜结构及线粒体 DNA 的损伤性攻击,但运动后骨骼肌、肝组织、血液中 SOD、GSH-Px 的活力降低,MDA 的含量升高,机体存在自由基增加远远大于消除速度的氧化应激状态。总的说来,运动性内源自由基及其引发的脂质过氧化可通过一系列的作用途径导致运动性疲劳^[7~10]。由结果可知,模型组肝、血、骨骼肌 SOD 活性有显著升高,而 MDA 含量有显著性降低,提示运动性疲劳模型复制成功,与上述报道相符。

3.2 中医对运动性疲劳产生机制的认识

运动性疲劳属于中医“劳倦”的范畴,疲劳的本质是脏腑功能下降或失调和经血不足。尽管中医没有对运动性疲劳作直接论述,但在中医的经典著作中却有许多对“疲劳”和“虚劳证”的论述。早在《内经》中就有“五劳所伤”,“精气夺则虚”,“阳虚则生外寒”,“阴虚则生内热”等等关于“虚劳”的记载。而《医宗金鉴·虚劳总括》中有这样一段论述:“虚者,阴阳、气血、荣卫、精神、骨髓、津液不足是也;损者,外而皮、脉、肉、筋、骨,内而肺、心、脾、肝、肾消损是也。成劳者,谓虚损日久,留连不愈,而成五劳、六极、七伤也。”“疲劳”一词则始见于汉代张仲景《金匮要略》,认为疲劳与“虚劳病”同类,认为疲劳的病机为气虚所致,有“劳则气耗,劳则喘息汗出,内外皆越,故气耗矣。”的论述。《内经·素问·举痛论》言“劳则气耗”,《杂病广要·虚劳篇》言“劳动不息则形虚”,《金匱玉函要略辑文》言“劳则必劳其精血也”、“气伤必及精”,《素问·调经篇》和《千金方》中称五劳者即肺劳、肝劳、心劳、脾劳、肾劳。根据历代医家对疲劳的论述,可以认为,疲劳不仅可以引起无形之气的耗损,也可引起有形之精血的亏损;既可引起虚证,也可引起虚实夹杂证。其病变涉及到肝心肺脾肾五脏^[11]。

3.3 人参皂苷 Rg1 和人参总皂苷抗运动性外周疲劳的效果与机制

传统中医学认为人参具有扶正固本、大补元气之效、补脾益肺、生津止渴、安神益智、补气生血的作用,是传统补虚要药。现代研究表明人参含有多种化学成分,主要有人参皂苷、人参多糖、多肽、人参炔

醇、麦芽酚、腺嘌呤核苷以及某些氨基酸和微量元素等,其中人参皂苷是人参生理活性最重要的有效成分。以往的研究显示了人参皂苷 Rg1 具有多方面的生物学活性,可升高肺缺血再灌注肺组织中 SOD 活性、降低 MDA 含量,有利于使机体功能正常化。^[12,13]本研究根据中医理论“虚则补之”,采用以进补作用抗体力性疲劳的主要治则,并参考以往的研究,选择人参主要提取物人参皂苷 Rg1 进行运动性疲劳的防治研究和运用。本实验结果显示,和模型组对照,人参皂苷 Rg1 能有效的提高红细胞、肝和骨骼肌 SOD 的活性,降低血清、肝和骨骼肌 MDA 的含量,增强机体抗氧化的能力,能有效的清除机体里过多的自由基和阻止自由基的过度产生,起到抗疲劳的效应。但是,人参皂苷 Rg1 抗氧化的具体机制,尤其是如何抑制自由基对线粒体膜结构及线粒体 DNA 损伤性攻击的作用靶点,需要进一步研究。

参考文献

- [1] 张爱芳. 实用运动生物化学[M]. 北京:北京体育大学出版社, 2007:169.
- [2] 乔德才, 张蕴琨, 邓树勋. 运动人体科学研究进展与应用[M]. 北京:人民体育出版社, 2008:235.
- [3] 杨润琴, 李承道. 运动疲劳机制与中医治疗思考[J]. 中华现代中西医杂志, 2003(7):605-606.
- [4] 王利安. 运动医学[M]第2版. 北京:人民体育出版社, 2008年:148.
- [5] 乔德才, 张蕴琨, 邓树勋. 运动人体科学研究进展与应用[M]. 北京:人民体育出版社, 2008:126.
- [6] 王煜, 周里, 刘远新, 等. 体育运动中疲劳产生机制的研究进展[J]. 山西师大体育学院学报, 2005(12):115.
- [7] 乔德才, 张蕴琨, 邓树勋. 运动人体科学研究进展与应用[M]. 北京:人民体育出版社, 2008:227.
- [8] 宫霞. 银杏叶提取物对小鼠骨骼肌过氧化损伤的保护作用[J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(4):359.
- [9] 丁莉. 银杏叶提取物对运动小鼠肝组织自由基代谢的影响[J]. 中国运动医学杂志, 1999, 18(4):312.
- [10] 宫霞. 银杏叶提取物对小鼠血液中谷胱甘肽过氧化物酶活力影响[J]. 曲阜师范大学学报, 2001, 27(1):7.
- [11] 李永峰. 中医对运动性疲劳的认识[J]. 安徽中医学院学报, 2006(10):4.
- [12] 江沛, 孙培吾, 麦惠成. 人参皂苷 Rb1 对肺缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 1997, 4(3):151-153.
- [13] Zhong GG, Jiang Wang XQ et al. Effects of panaxadiol and panaxatriol sap onins on action potentials of normal and xanthine oxidase damaged cultured myocardial cell[J]. Acta Pharmacol Sin, 1991, 12:256.

(收稿日期:2008-11-07)