

拟黑多刺蚁提取液可缓解小鼠体力疲劳

张庆华^{1*} 吕晓华^{2**}

(1 四川大学体育科学研究所 成都 610064; 2 四川大学华西公共卫生学院营养与食品卫生学教研室 成都 610041)

The extract of *Polyrhachis vicina* can alleviate physical fatigue in mice. ZHANG Qing-Hua^{1*}, LU Xiao-Hua^{2**}

(1. Research Institute of Sports Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract The alleviative effect of *Polyrhachis vicina* Roger extract on physical fatigue in mice was studied. Method The raw sample of *P. vicina* was extracted with distilled water and ethanol subsequently. Male Kunming mice were divided into four groups: distilled water control, ethanol control and three experimental groups in which the doses of *P. vicina* extract were 8.3, 16.7 and 25.0 mL/kg[°]bw respectively. After orally administered for 30 days, loaded swimming time, blood lactic acid, serum urea nitrogen and glycogen in liver were determined. The loaded swimming times of mice in the three experimental groups and the ethanol control group were significantly longer than that in the group of distilled water control ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the loaded swimming time in the group of 8.3 mL/kg[°]bw was significantly longer than that in the group of ethanol control ($P < 0.01$). The area under the blood lactic acid curve of before, 0 minute and 20 minutes after swimming in the group of 8.3 mL/kg[°]bw was significantly smaller than those in the groups of distilled water and ethanol control ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The area under the blood lactic acid curve in the group of 16.7 mL/kg[°]bw was significantly smaller than that in the group of distilled water control ($P < 0.05$). The serum urea nitrogen contents of mice in the three experimental groups and the ethanol control group were significantly lower than that in the group of distilled water control ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the serum urea nitrogen content in the group of 16.7 mL/kg[°]bw was significantly lower than that in the group of ethanol control ($P < 0.05$). The extract of *P. vicina* can alleviate physical fatigue in mice.

Key words *Polyrhachis vicina*, physical fatigue, loaded swimming time, blood lactic acid, serum urea nitrogen, glycogen

摘 要 研究拟黑多刺蚁 *Polyrhachis vicina* Roger 提取液的缓解体力疲劳作用。采用清洁级雄性昆明种小鼠, 拟黑多刺蚁水和乙醇双重提取液按 8.3 mL/kg[°]bw, 16.7 mL/kg[°]bw, 25.0 mL/kg[°]bw 连续灌胃 30 d, 测定小鼠负重游泳时间、血乳酸、血清尿素氮和肝糖原含量。结果: 3 个实验组及乙醇对照组小鼠负重游泳时间均显著长于蒸馏水对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 8.3 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠负重游泳时间显著长于乙醇对照组 ($P < 0.01$)。8.3 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠 3 个时点血乳酸曲线下面积显著低于蒸馏水对照组和乙醇对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 16.7 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠 3 个时点血乳酸曲线下面积明显低于蒸馏水对照组 ($P < 0.01$)。乙醇对照组及拟黑多刺蚁提取液 3 个剂量组小鼠血清尿素氮含量均显著低于蒸馏水对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 16.7 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠血清尿素氮含量低于乙醇对照组 ($P < 0.05$)。拟黑多刺蚁提取液具有缓解体力疲劳的作用。

关键词 拟黑多刺蚁, 体力疲劳, 负重游泳, 血乳酸, 血清尿素氮, 肝糖原

随着竞技体育的发展和运动水平的提高, 运动员在激烈的竞赛中, 如何尽快消除疲劳, 提高运动能力, 成为当今运动训练和运动医学领域的研究热点。蚂蚁属节肢动物门昆虫纲膜翅

目蚁科, 我国以蚂蚁作为食物已有 3 000 年的

* E-mail: optimistzhanghua@163.com

**通讯作者, E-mail: lvxh-97080@sohu.com

历史, 蚂蚁及其制剂含有多种人体必需氨基酸、微量元素、维生素及蚁醛等生物活性成分, 药理研究证实其具有抗炎、镇痛、解痉、平喘、护肝、双向调节免疫等作用, 临床上用于治疗类风湿、肝炎、遗精、贫血等疾病^[1~5]。蚂蚁繁殖能力强, 在我国分布广泛, 其药用和食用价值越来越受到人们的青睐。鼎突多刺蚁 *Polyrhachis vicina* Roger 又名拟黑多刺蚁、黑多刺蚁、大黑蚁、黑蚂蚁、被胎蚁, 古名玄驹, 是经中华人民共和国卫生部批准的惟一药、食两用蚂蚁, 可望成为抗疲劳保健品的原料, 但此方面的研究较少。作者采用水和乙醇双重提取方法制备拟黑多刺蚁提取液, 观察拟黑多刺蚁的缓解体力疲劳作用, 为其应用于缓解体力疲劳保健品的研究开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 样品制备

由于蚂蚁成分复杂, 单用一种提取方法很难将其有效成分充分提取出来, 故采用水和乙醇双重提取的方法。为防止生物活性物质在提取过程中被破坏, 在常温条件下用蒸馏水和无水乙醇冷浸抽提。拟黑多刺蚁为广西风干品, 经筛选、清洗、粉碎成 ≤ 60 目, 37°C 下于2倍蒸馏水中浸泡48 h, 过滤, 收集滤液, 滤渣在低于 20°C 下用3倍无水乙醇浸渍48 h, 抽滤, 滤渣用同样方法再提取2次, 合并水提取液和3次无水乙醇提取液, 于 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 水浴将乙醇酒精挥至含量为15%, 4°C 贮存备用。

蚂蚁粉碎后, 消化, 凯氏定氮法测定蛋白质含量, 样品用 6 mol/L HCl 水解, 11°C 24 h 后抽酸、定容。然后用氨基酸自动分析仪测定必需氨基酸含量。准确称取样品粉末500 mg, 用10 mL 浓硝酸浸泡24 h, 加1 mL 高氯酸, 140°C 加热至白烟冒尽。白色残渣冷却后去离子水溶解, 过滤, 定容, 原子吸收分光光度计测定微量元素含量。准确称取样品粉末1 g, 加入 0.01 mol/L HCl 50 mL, 超声溶解15 min, 用 0.01 mol/L HCl 定容至100 mL, 静置片刻, $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后, 高效液相色谱法和荧光测定法检

测样品中维生素含量。

1.2 实验动物

清洁级雄性昆明种小鼠, 体重 $18\sim 22\text{ g}$, 由四川省医学科学院实验动物中心提供(动物合格证号: SCXK(川)2003-002号)。

1.3 实验分组

适应性喂养3 d后, 按体重将小鼠随机分为蒸馏水对照组、乙醇对照组和3个蚂蚁提取液实验组。实验组动物分别按 8.3 、 16.7 和 $25.0\text{ mL kg}^{-1}\text{ bw}$ 蚂蚁提取液灌胃, 每天1次, 共30 d, 灌胃体积为 $2\text{ mL } 100\text{ g}^{-1}\text{ bw}$ 。蒸馏水对照组动物用蒸馏水灌胃, 乙醇对照组动物用15%乙醇溶液灌胃。

1.4 主要仪器与试剂

$40\text{ cm}\times 60\text{ cm}\times 35\text{ cm}$ 游泳箱, ISP-M 型半自动生化仪, SBA-生物传感分析仪, VIS-7200 可见分光光度计、匀浆机、离心机、电子天平。

1.5 实验方法

(1)负重游泳实验: 末次给予受试物30 min后, 将尾根部负荷5%体重铅皮的小鼠置于游泳箱中游泳。箱中水深不少于30 cm, 水温(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 记录小鼠自游泳开始至死亡的时间。

(2)血乳酸测定: 末次给予受试物30 min后, 将动物置温度为 30°C 的水中不负重游泳10 min, 并于游泳前、游泳后立即、游泳后休息20 min各采眼球血 $20\text{ }\mu\text{L}$ 测定乳酸含量。并按以下公式计算血乳酸曲线下面积, 以判断运动后血乳酸变化情况。

血乳酸曲线下面积 $=5\times$ (游泳前血乳酸值 $+3\times$ 游泳后0 min血乳酸值 $+2\times$ 游泳后休息20 min血乳酸值)。

(3)血清尿素氮测定: 末次给予受试物30 min后, 将小鼠置温度为 30°C 的水中不负重游泳90 min, 休息60 min后采眼球血 0.5 mL , 血凝固后取血清用二乙酰-肟法测定血清尿素氮含量。

(4)肝糖原测定: 于末次给予受试物后30 min处死动物, 取肝脏经生理盐水漂洗后用滤纸吸干后置于冰面上的平皿内, 迅速称取肝脏 100 mg , 蒽酮法测定肝糖原含量。

1.6 统计分析

实验数据用 PEMS for Windows 3.0 统计软件进行统计分析。

2 结果

2.1 样品的营养素含量

由表 1 可见, 拟黑多刺蚁的蛋白质含量较高, 8 种人体必需氨基酸种类齐全。拟黑多刺蚁还含有多种维生素和微量元素, 其中维生素 E 和铁、锌、锰含量较高。

表 1 拟黑多刺蚁的营养素含量

蛋白质 (g/100 g)	必需氨基酸 (mg/100 g)	维生素 (mg/100 g)	微量元素 (mg/100 g)
46.50	亮氨酸 2.111	A 0.98	铁 708.59
	异亮氨酸 2.822	E 2.00	锌 99.00
	苏氨酸 1.208	C 0.11	锰 131.50
	苯丙氨酸 893	B ₁ 0.10	铬 3.33
	赖氨酸 1.247	B ₂ 0.41	铜 28.63
	缬氨酸 1.904	B ₆ 0.18	硒 0.29
	蛋氨酸 435	叶酸 0.05	
	色氨酸 1.055		
	组氨酸 546		

2.2 拟黑多刺蚁提取液对小鼠负重游泳时间的影响

如表 2 所示, 3 个实验组及乙醇对照组小鼠负重游泳时间均显著长于蒸馏水对照组 (P

< 0.05 , $P < 0.01$); 8.3 mL/kg[°]bw 剂量实验组小鼠负重游泳时间显著长于乙醇对照组 ($P < 0.01$)。

表 2 蚂蚁提取液对小鼠负重游泳时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mL/kg [°] bw)	动物数 (只)	负重游泳时间 (s)
蒸馏水对照组	0	10	341.1 ± 53.7
乙醇对照组	0	10	454.6 ± 133.9**
低剂量组	8.3	10	604.1 ± 281.3***▲
中剂量组	16.7	10	430.6 ± 117.9*
高剂量组	25.0	10	447.8 ± 152.8**

*与蒸馏水对照组比较, $P < 0.05$; **与蒸馏水对照组比较, $P < 0.01$; ▲▲与乙醇对照组比较, $P < 0.01$ 。(下表同)

2.3 拟黑多刺蚁提取液对小鼠血乳酸含量的影响

如表 3 所示, 8.3 mL/kg[°]bw 和 16.7 mL/kg[°]bw 2 个剂量组小鼠游泳后 0 min 血乳酸含量显著低于蒸馏水对照组和乙醇对照组 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$); 8.3 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠游泳后 20 min 血乳酸含量显著低于蒸馏水对照组 ($P < 0.05$); 8.3 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠 3 个时点血乳酸曲线下面积明显低于蒸馏水对照组和乙醇对照组 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$), 16.7 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠 3 个时点血乳酸曲线下面积明显低于蒸馏水对照组 ($P < 0.01$)。

表 3 蚂蚁提取液对小鼠血乳酸含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mL/kg [°] bw)	动物数 (只)	血乳酸含量(mmol/L)			血乳酸曲线下 面积
			游泳前	游泳后 0 min	游泳后 20 min	
蒸馏水对照组	0	11	2.45 ± 1.22	5.66 ± 2.69	1.91 ± 0.74	116.30 ± 48.24
乙醇对照组	0	11	2.20 ± 0.74	4.33 ± 1.32	1.75 ± 1.65	93.39 ± 30.28
低剂量组	8.3	11	1.62 ± 0.72	2.93 ± 1.22***▲	1.18 ± 0.32	63.80 ± 22.27***▲
中剂量组	16.7	11	1.59 ± 0.55	3.28 ± 1.29***▲	1.75 ± 0.72	74.61 ± 23.48**
高剂量组	25.0	10	2.52 ± 1.03	3.99 ± 0.96	1.72 ± 0.69	89.60 ± 22.69

2.4 拟黑多刺蚁提取液对小鼠血清尿素氮含量的影响

如表 4 所示, 乙醇对照组及蚂蚁提取液 3 个剂量组小鼠血清尿素氮含量均显著低于蒸馏水对照组 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$), 16.7 mL/kg[°]bw 剂量组小鼠血清尿素氮含量低于乙醇对照组 ($P < 0.05$)。

表 4 蚂蚁提取液对小鼠血清尿素氮含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mL/kg [°] bw)	动物数 (只)	血清尿素氮 (mmol/L)
蒸馏水对照组	0	10	7.32 ± 0.48
乙醇对照组	0	10	5.62 ± 0.73**
低剂量组	8.3	10	6.01 ± 0.74**
中剂量组	16.7	10	5.51 ± 0.42*▲
高剂量组	25.0	10	5.51 ± 0.91**

2.5 拟黑多刺蚁提取液对小鼠肝糖原含量的影响

由表 5 显示, 蚂蚁提取液各剂量组小鼠肝糖原含量与对照组比较, 差异无显著性 ($P>0.05$)。

表 5 蚂蚁提取液对小鼠肝糖原含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mL/kg [°] bw)	动物数 (只)	肝糖原含量 (mg/100 g)
蒸馏水对照组	0	10	3 688. 25±1 244. 37
乙醇对照组	0	10	2 370. 26±465. 83
低剂量组	8. 3	10	2 785. 05±430. 34
中剂量组	16. 7	10	2 327. 35±1 115. 99
高剂量组	25. 0	10	2 637. 43±733. 04

3 讨论

疲劳是运动能力降低的主要原因, 而缓解体力疲劳有助于运动能力的保持和运动成绩的提高^[9]。本实验中 8. 3 mL/kg[°]bw 拟黑多刺蚁提取液组小鼠负重游泳时间显著延长, 原因可能是: 拟黑多刺蚁含有丰富的蛋白质和游离氨基酸, 能及时补充肌肉蛋白合成的原料; 铁、铜、锌、钙和磷能增强肌球蛋白和肌动蛋白的相互作用, 使肌肉收缩增强; 钠、钾、钙和镁对维持细胞内外渗透压、酸碱平衡、神经肌肉兴奋性和细胞膜通透性均有作用^[9], 推迟疲劳的出现。锰、锌及维生素 E 和维生素 C 还能清除运动中产生的氧自由基^[7]。此外, 拟黑多刺蚁中富含蚁酸、臭蚁素、蚁醛、辅酶、生物碱、组织胺等多种生物活性成分^[8], 可能也与其缓解体力疲劳作用有关。

肌肉中乳酸堆积是疲劳发生的重要原因。乳酸的清除速度越快, 越有利于疲劳的消除。乳酸浓度升高可使肌肉中 H⁺ 浓度上升, pH 下降。继而抑制磷酸果糖激酶的活性^[9], 减少能量的生成, 导致运动能力下降。乳酸堆积还干扰 Ca²⁺ 的生理活性, 影响肌肉兴奋—收缩的耦联过程, 使肌肉收缩力下降^[10]。拟黑多刺蚁提取液中的 B 族维生素是糖代谢过程的关键酶丙酮酸脱氢酶的辅酶, 并参与神经递质乙酰胆碱的合成与分解, 可加速运动后血乳酸的清除, 提高运动耐力。B 族维生素还能增强骨骼肌有

氧供能能力, 减少无氧酵解产生的乳酸。锌能激活多种酶, 特别是增强乳酸脱氢酶活力, 从而加速乳酸分解^[11]。

血清尿素氮是评价机体体力负荷承受能力的一个灵敏指标。尿素氮是蛋白质的代谢产物, 生理条件下, 蛋白质和氨基酸等含氮物质在分解代谢中先进行脱氨基反应, 氮在肝脏转变为尿素, 经血液循环从肾脏排出体外。当机体长时间运动而破坏正常的能量代谢平衡, 即不能通过糖和/或脂肪分解获得足够能量时, 机体本身的蛋白质和氨基酸分解代谢随之增强, 血尿素含量随劳动和运动负荷增强而增加, 机体对负荷的适应能力越差, 血尿素的增加越显著。而当机体通过糖、脂肪代谢获得足够能量时, 可减少剧烈活动或劳动过程中蛋白质的氧化分解, 从而保证蛋白质的正常生理功能, 提高机体对剧烈负荷的适应能力, 增强耐力。运动后尿素氮增幅的降低, 正是机体耐力增强、对剧烈负荷适应能力提高的表现, 故可通过血清尿素氮含量的测定来判断疲劳程度和抗疲劳物质的抗疲劳能力^[12]。本实验中拟黑多刺蚁提取液 16. 7 mL/kg[°]bw 剂量组血清尿素氮水平显著降低, 提示拟黑多刺蚁提取液可能减少蛋白质分解, 增强小鼠对负荷的适应能力。

综上, 拟黑多刺蚁提取液能明显延长小鼠负重游泳时间, 降低血清尿素氮水平, 加快乳酸的清除, 表明可缓解体力疲劳, 提高运动耐力, 具有一定的抗运动性疲劳作用。

参 考 文 献

1 任远, 闫秀巍, 张巨文, 王志旺. 中成药, 2001, 3(23): 202~204
2 张保国, 李昌勤, 刘庆芳. 中成药, 2004, 8(26): 668~671.
3 邹梅, 孙兰, 王玮. 卫生毒理学杂志, 2004, 3(1): 63.
4 王立芳, 官杰, 杜凤霞. 中国基层医药, 2004, 5(11): 581~582
5 吴志成. 中国蚂蚁疗法. 北京: 人民军医出版社, 2003. 60.
6 毛跟年. 功能食品生理特性与检测技术. 北京: 化学工业出版社, 2005. 351~359.
7 王忠, 袁国英, 张继贤, 周晓春, 刘保刚, 等. 基础医学与临床, 1996, 16(1): 74.
8 黄诺嘉, 萧树雄. 现代中药研究与实践 2003, 17(1): 60~62
9 Trivedi B., Danforth W. H. J. Biol. Chem., 1966 9(17): 4 110~4 112.
10 豪文. 中国运动医学杂志, 1985, 4(3): 162~166.
11 玉薇. 中国运动医学志, 1990, 4(1): 10~14.
12 文涛. 运动负荷的生化评定. 广州: 广东高等教育出版社, 1996. 128~134.