

黄芪多糖对气虚大鼠的补气作用及其机制探讨

余意¹, 胡明华¹, 张丹丹², 王天合², 李慧君², 夏和元², 罗心遥², 杨玉莹², 叶晓川² [1. 无限极(中国)有限公司, 广东 广州 5106232; 2. 湖北中医药大学药学院中药资源与中药化学省级重点实验室, 湖北 武汉 430065]

摘要: **目的** 探讨黄芪多糖及分级醇沉多糖对气虚大鼠的补气作用及机制。**方法** 将 88 只 Wistar 大鼠随机分为 11 组, 分别为正常组, 模型组, 阳性药组, 黄芪多糖(APS)高、低剂量组, 10%乙醇沉淀多糖(APSM1)高、低剂量组, 40%乙醇沉淀多糖(APSM2)高、低剂量组和 80%乙醇沉淀多糖(APSM3)高、低剂量组。除正常组外, 其余各组大鼠采用“饮食不节+负重游泳”建立气虚模型, 给药组分别灌胃给予黄芪各多糖, 正常组和模型组灌胃给予等量蒸馏水。3 周后处死大鼠, 记录大鼠体质量、游泳时间, 计算胸腺指数、脾脏指数, 检测大鼠血清白细胞介素 2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 12(IL-12)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、白蛋白(ALB)、肝脏三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)等指标, 评价黄芪多糖及不同乙醇沉淀多糖对气虚大鼠的补气作用。**结果** 与模型组比较, 黄芪多糖及分级醇沉多糖均可以明显降低 MDA、TNF- α 和乳酸含量($P < 0.05$, $P < 0.01$), 明显提高游泳时间($P < 0.01$); 黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖、80%乙醇沉淀多糖可明显升高 ALB、ATP 及 ADP 含量($P < 0.05$, $P < 0.01$); 黄芪多糖、40%乙醇沉淀多糖、80%乙醇沉淀多糖可以明显升高 IL-2 含量($P < 0.01$); 黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖、40%乙醇沉淀多糖能明显降低大鼠 CK 活力($P < 0.05$, $P < 0.01$); 40%乙醇沉淀多糖低剂量组还可明显升高 IL-12 水平($P < 0.05$)。**结论** 黄芪多糖可通过降低机体血乳酸的积累, 降低 CK 活力, 降低大鼠体内脂质过氧化物水平, 提升机体免疫力, 起到补气、延缓疲劳发生、提高运动能力的作用; 分级醇沉多糖作用靶点存在一定差异。

关键词: 黄芪多糖; 分级醇沉多糖; 气虚; 补气; 免疫力; 延缓疲劳; 运动能力

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)04-0505-06

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783.2021.04.009

The "Qi-invigorating" Effect and Possible Underlying Mechanism of Astragalus Polysaccharides on Rats with Qi-Deficiency

YU Yi¹, HU Minghua¹, ZHANG Dandan², WANG Tianhe², LI Huijun², XIA Heyuan², LUO Xinyao², YANG Yuying², YE Xiaochuan² [1. INFINITUS (China) Company Limited, Guangzhou 5106232 Guangdong, China; 2. Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Resource, Wuhan 430065 Hubei, China]

Abstract: Objective The aim of this study was to investigate the function of Astragalus polysaccharides (APS) and graded alcohol precipitation polysaccharide on rats with qi-deficiency and to elucidate the associated mechanisms.

Methods 88 Wistar rats were randomly divided into 11 groups: normal group, model group, positive drug group, Astragalus polysaccharide (APS) high and low dose groups, 10% ethanol precipitated polysaccharide (APSM1) high and low dose groups, 40% ethanol precipitated polysaccharide (APSM2) high and low dose groups, and 80% ethanol precipitated polysaccharide (APSM3) high and low dose groups. The model of qi-deficiency was made by the method of "diet disorder + weight-bearing swimming". Each APS-administration group was given the corresponding

收稿日期: 2020-09-18

作者简介: 余意, 男, 工程师, 博士, 研究方向: 中药材及保健食品研发。Email: Yi.Yu@infinitus-int.com。通信作者: 叶晓川, 女, 教授, 博士, 研究方向: 中药及其制剂的物质基础研究。Email: yxccc1965@163.com。

基金项目: 湖北中医药大学校企合作项目(H2019031)。

polysaccharide by gavage, whereas the normal group and the model group were treated with equal amount of distilled water. All of the rats were killed after 3 weeks. The body weight and the time of exhausted swimming were recorded. The spleen index and the thymus index of rats were calculated. In addition, serum interleukin-2 (IL-2), tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-12 (IL-12), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), lactate, creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), albumin (ALB), adenosine triphosphate (ATP) in liver, adenosine diphosphate (ADP) in liver were detected. And *qi*-invigorating effect of APS and graded alcohol precipitation polysaccharide on rats with *qi*-deficiency was evaluated. **Results** Compared with the model group, APS and graded alcohol precipitation polysaccharide can reduce the content of MDA, TNF- α and lactic acid ($P < 0.05$, $P < 0.01$), prolong the swimming time ($P < 0.01$). APS, APSM1 and APSM3 can improve the content of ALB, ATP and ADP ($P < 0.05$, $P < 0.01$). APS, APSM2 and APSM3 can improve the level of IL-2 ($P < 0.01$). APS, APSM1 and APSM2 can improve the activity of CK ($P < 0.05$, $P < 0.01$). APSM2 low dose group can improve the level of IL-12 ($P < 0.05$). **Conclusion** Astragalus polysaccharides plays the role of tonifying *qi*, delaying fatigue, and improving exercise ability *via* reducing the body's accumulation of blood lactic acid, decreasing the activity of CK and the level of lipid peroxide, regulating body immunity. The results showed that there were some differences in the targets of graded alcohol polysaccharide precipitation.

Keywords: Astragalus polysaccharides; graded alcohol precipitation polysaccharide; *qi* deficiency; "*qi*-invigorating" effect; immunity; delay fatigue; exercise ability

气是构成人体的最基本物质,它布散于全身各脏腑、经络等组织器官之中,无处不到,时刻发挥着推动、气化、营养等多种作用,从而产生和维持各种生命活动。气虚证是指元气不足、气的功能减退、脏腑组织机能活动减弱所表现的证候,临床表现有:少气懒言,声音低微,呼吸气短,神疲乏力,或头晕目眩,自汗,活动后诸症加重,舌质淡嫩,脉虚无力等^[1]。

黄芪始载于《神农本草经》,位列补药之长,有补气升阳、固表止汗、利水消肿、行滞通痹、托毒生肌等功效,临床主要用于气虚乏力、食少便溏、中气下陷、气虚水肿等。黄芪主要含有皂苷、多糖、黄酮等化学成分^[2],本课题组预试验证实皂苷为其补气的药效物质之一。黄芪的干燥根经提取、浓缩、纯化而成的黄芪多糖为水溶性杂多糖,现代药理研究证实其具有抗疲劳、抗氧化、降血糖、抗肿瘤、调节免疫力等多重功效^[3-7],但其是否具有补气作用还未见报道。因此本研究探讨了黄芪多糖及分级醇沉多糖对气虚大鼠的补气作用及机制,以期为诠释黄芪补气的药效物质基础提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 Wistar 大鼠,雄性,SPF 级,6 周龄,体质量(160±20)g,湖北省疾病预防控制中心提

供,动物许可证号:SCXK(鄂)2015-0018,动物质量合格证号:42000600033192;饲养于湖北中医药大学 SPF 实验动物中心,使用许可证号:SCXK(鄂)2017-0067。

1.2 药物及试剂 黄芪为本实验室自行采购的内蒙古通辽市的蒙古黄芪,经湖北中医药大学叶晓川教授鉴定为蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var *mongholicus* (Bge.) Hsiao] 的干燥根。黄芪多糖及分段多糖为本实验室自行制备,经苯酚-硫酸法检测黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖、40%乙醇沉淀多糖和 80%乙醇沉淀多糖含量分别为 50.54%、51.11%、50.10%、51.54%。阳性药为补中益气丸,仲景宛西制药股份有限公司,生产批号:18070102。

血清乳酸、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD),白蛋白(ALB)、乳酸脱氢酶(LDH)、肝脏三磷酸腺苷(ATP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 12(IL-12)、白细胞介素 2(IL-2),南京建成生物医学工程研究所,批号分别为:20190306、20190308、20190306、20190308、20190306、20190315、20190318、20190423、20190318;肌酸激酶(CK),武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:E-EL-R0274C;二磷酸腺苷(ADP),上海抚生实业有限公司,批号:201904。

1.3 仪器 Spark 10M 型酶标仪,瑞士 TECAN 公司;

UV-1800 型紫外可见分光光度计, 岛津企业管理(中国)有限公司; S10 型 1G-581 手持电动匀浆机, 浙江宁波新芝公司; 5810R 型高速冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; BSA423S 型千分之一电子天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; 10 000 mL ZNHW 型智能恒温电热套, 天津工业实验室仪器有限公司; HH-6 型数显恒温水浴锅, 常州国华电器有限公司。

1.4 分组、模型复制及给药方法 实验开始后, 所有大鼠均在(25±1)℃, 水深 40 cm 的恒温水槽中适应性游泳 3 d, 每天游泳 5 min。分组前 1 d, 在大鼠尾部负 5%体质量的重物后进行力竭游泳(大鼠游泳最后下沉后鼻尖浸入水中, 经 10 s 后仍不能返回水面即为力竭), 剔除负重力竭游泳时间(从开始游泳到出现力竭的时间)差异较大的以及不会游泳的大鼠, 保留负重力竭游泳时间在 10~50 min 的合格大鼠^[8]。将合格大鼠(本研究中所有大鼠均合格)按体质量随机分为正常组, 模型组, 对照组, 黄芪多糖(APS)高、低剂量组, 10%乙醇沉淀多糖(APSM1)高、低剂量组, 40%乙醇沉淀多糖(APSM2)高、低剂量组和 80%乙醇沉淀多糖(APSM3)高、低剂量组, 每组 8 只。空白组大鼠正常饲养, 不作特殊处理; 其余各组大鼠均采用“饮食不节+疲劳法”^[9-10]构建气虚动物模型: 每天上午 9:00 在恒温水槽中通过尾部负 5%体质量的重物进行力竭游泳, 并禁食 1 d 后隔天限饲料量饲养, 连续 21 d。于模型复制同时, 阳性对照组大鼠每日灌胃补中益气丸 4.5 g·kg⁻¹(以生药量计, 以蒸馏水溶解)^[11]; 结合临床用量以及相关研究^[12], 根据黄芪各多糖得率折合后确定黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖、40%乙醇沉淀多糖和 80%乙醇沉淀多糖的高、低剂量分别为 108、12 mg·kg⁻¹(以黄芪多糖计, 用蒸馏水溶解); 正常组和模型组大鼠同时灌胃等体积蒸馏水。每天给药 1 次, 灌胃量为 10 mL·kg⁻¹, 连续给药 21 d。实验过程中观察大鼠的精神状态、活动情况、体质量、二便形态、皮毛色泽等外观行为变化。

1.5 负重力竭游泳时间测定 实验结束前 1 d, 大鼠尾部负以 5%体质量的重物, 置于水温 25℃、水深 40 cm 的圆形游泳桶中负重游泳, 大鼠入水后鼻尖没入水中 10 s 不能浮出水面则停止游泳, 记录游泳时间。

1.6 实验取材 末次给药结束后, 记录各组大鼠的游泳时间, 禁食 12 h, 麻醉、取血并摘取大鼠的胸腺、脾脏、肝脏; 然后用冰冷生理盐水冲洗, 滤纸

吸干, 迅速称质量, 放入液氮并转移到-80℃冰箱待用。

1.7 指标检测 检测的指标有: 体质量, 脾脏指数[脾脏指数=脾脏质量(mg)/大鼠体质量(g)], 胸腺指数[胸腺指数=胸腺质量(mg)/大鼠体质量(g)], 力竭游泳时间; 采用生化试剂盒检测血清乳酸、MDA、SOD、ALB; 另采用 ELISA 试剂盒分析各组大鼠血清样本 CK、LDH、IL-2、TNF-α、IL-12、肝脏 ATP、ADP 等指标。各指标严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.8 统计学处理方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用独立样本 *T* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 证候学观察 正常组大鼠摄食、饮水正常, 皮毛顺滑、有光泽, 精神很好, 活动正常, 反应灵敏, 大便成形; 模型组大鼠活动能力较正常组减少, 精神萎靡、皮毛蓬松、出现炸毛, 毛发无光泽、大便松软有溏泻现象, 上述证候符合中医气虚的辨证诊断; 给药组大鼠一般情况趋于正常组。

2.2 对气虚大鼠体质量、游泳时间、胸腺指数与脾脏指数的影响 见表 1。与正常组比较, 模型组大鼠的体质量、游泳时间、胸腺指数与脾脏指数明显下降, 差异有统计学意义(*P* < 0.01), 说明气虚大鼠的体质量会下降, 免疫功能有所下降, 有明显疲劳状况, 表明模型复制成功^[13]。与模型组比较, 补中益气丸组、10%乙醇沉淀多糖高剂量组、80%乙醇沉淀多糖低剂量组大鼠体质量明显升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01); 各给药组大鼠的游泳时间均明显升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.01); 10%乙醇沉淀多糖低剂量组大鼠的胸腺指数有明显增加(*P* < 0.05); 黄芪多糖高剂量组、10%乙醇沉淀多糖低剂量组、40%乙醇沉淀多糖低剂量组、80%乙醇沉淀多糖高剂量组的脾脏指数明显升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

2.3 对气虚大鼠相关炎症因子的影响 见表 2。与正常组比较, 模型组大鼠的 IL-2 和 IL-12 含量明显下降, TNF-α 含量明显升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。与模型组比较, 补中益气丸组, 黄芪多糖、40%乙醇沉淀多糖和 80%乙醇沉淀多糖的高剂量组, 以及 40%乙醇沉淀多糖低剂量组大鼠的 IL-2 含量明显升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.01);

表 1 黄芪多糖对气虚大鼠体质量、游泳时间、胸腺指数与脾脏指数的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effects of Astragalus polysaccharides on body weight, swimming time, spleen index and thymus index of rats with *qi* deficiency($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	体质量/g	游泳时间/min	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)	脾脏指数/(mg·g ⁻¹)
正常组	331.33 ± 18.60	18.92 ± 4.72	1.91 ± 0.41	2.43 ± 0.54
模型组	236.67 ± 15.50**	8.25 ± 0.64**	1.62 ± 0.22*	1.93 ± 0.28*
补中益气丸组	250.00 ± 11.30 [#]	11.87 ± 2.10 [#]	1.68 ± 0.44	1.93 ± 0.34
黄芪多糖高剂量组	243.50 ± 11.55	11.94 ± 1.23 [#]	1.63 ± 0.24	2.30 ± 0.37 [#]
黄芪多糖低剂量组	243.75 ± 18.17	15.24 ± 2.25 [#]	1.76 ± 0.34	2.09 ± 0.26
10%乙醇沉淀多糖高剂量组	253.25 ± 12.17 [#]	13.85 ± 1.15 [#]	1.75 ± 0.34	2.20 ± 0.53
10%乙醇沉淀多糖低剂量组	233.13 ± 10.36	11.00 ± 1.72 [#]	1.88 ± 0.15 [#]	2.48 ± 0.31 [#]
40%乙醇沉淀多糖高剂量组	250.25 ± 11.00	11.53 ± 2.78 [#]	1.74 ± 0.35	2.15 ± 0.33
40%乙醇沉淀多糖低剂量组	244.00 ± 16.25	11.53 ± 0.92 [#]	1.76 ± 0.56	2.26 ± 0.38 [#]
80%乙醇沉淀多糖高剂量组	244.88 ± 10.74	19.04 ± 5.03 [#]	1.74 ± 0.30	2.32 ± 0.59 [#]
80%乙醇沉淀多糖低剂量组	259.25 ± 12.38 [#]	13.96 ± 3.72 [#]	1.73 ± 0.36	2.12 ± 0.41

注：与空白组比较，**P* < 0.05，***P* < 0.01；与模型组比较，[#]*P* < 0.05，[#]#*P* < 0.01

表 2 黄芪多糖对气虚大鼠 IL-2、IL-12 和 TNF-α 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effects of Astragalus polysaccharides on IL-2, IL-12 and TNF-α of rats with *qi* deficiency($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	IL-2/(pg·mL ⁻¹)	IL-12/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(ng·L ⁻¹)
正常组	121.09 ± 15.63	64.96 ± 12.35	172.12 ± 41.17
模型组	98.56 ± 12.97*	51.88 ± 5.08*	456.26 ± 89.49 [#]
补中益气丸组	135.40 ± 13.02 [#]	86.05 ± 17.81 [#]	169.98 ± 44.32 [#]
黄芪多糖高剂量组	209.70 ± 19.57 [#]	66.00 ± 16.62	335.86 ± 53.67 [#]
黄芪多糖低剂量组	126.80 ± 50.56	70.46 ± 21.41	315.65 ± 69.18 [#]
10%乙醇沉淀多糖高剂量组	104.86 ± 12.73	69.38 ± 18.86	331.63 ± 69.64 [#]
10%乙醇沉淀多糖低剂量组	106.53 ± 18.05	56.90 ± 3.92	311.73 ± 94.94 [#]
40%乙醇沉淀多糖高剂量组	193.75 ± 47.74 [#]	55.34 ± 14.47	178.46 ± 21.01 [#]
40%乙醇沉淀多糖低剂量组	178.86 ± 42.18 [#]	65.83 ± 13.52 [#]	193.83 ± 51.70 [#]
80%乙醇沉淀多糖高剂量组	140.98 ± 16.52 [#]	48.77 ± 13.82	291.02 ± 70.24 [#]
80%乙醇沉淀多糖低剂量组	114.82 ± 22.44	54.52 ± 9.98	300.75 ± 62.68 [#]

注：与空白组比较，**P* < 0.05，***P* < 0.01；与模型组比较，[#]*P* < 0.05，[#]#*P* < 0.01

补中益气丸组和 40%乙醇沉淀多糖低剂量组大鼠的 IL-12 含量明显升高，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)；各组的 TNF-α 含量均明显降低，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

2.4 对气虚大鼠 MDA、SOD 水平的影响 见表 3。与正常组比较，模型组大鼠体内的 MDA 含量明显升高，差异有统计学意义(*P* < 0.05)；与模型组比较，各给药组大鼠的 MDA 均明显下降，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。与正常组比较，模型组大鼠

表 3 黄芪多糖对气虚大鼠超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effects of Astragalus polysaccharides on SOD and MDA of rats with *qi* deficiency($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
正常组	11.80 ± 3.36	20.50 ± 0.71
模型组	16.43 ± 4.00*	20.19 ± 0.67
补中益气丸	10.44 ± 2.67 [#]	19.93 ± 0.81
黄芪多糖高剂量组	7.79 ± 2.10 [#]	20.65 ± 0.64
黄芪多糖低剂量组	7.85 ± 1.69 [#]	20.36 ± 1.09
10%乙醇沉淀多糖高剂量组	9.89 ± 2.33 [#]	20.51 ± 0.51
10%乙醇沉淀多糖低剂量组	9.56 ± 0.72 [#]	20.83 ± 0.52
40%乙醇沉淀多糖高剂量组	9.30 ± 1.41 [#]	20.65 ± 0.64
40%乙醇沉淀多糖低剂量组	8.31 ± 1.36 [#]	20.47 ± 0.44
80%乙醇沉淀多糖高剂量组	6.97 ± 0.56 [#]	20.58 ± 0.29
80%乙醇沉淀多糖低剂量组	8.07 ± 2.01 [#]	20.15 ± 0.63

注：与空白组比较，**P* < 0.05；与模型组比较，[#]*P* < 0.05，[#]#*P* < 0.01

的 SOD 活力差异无统计学意义(*P* > 0.05)；与模型组比较，各给药组大鼠的 SOD 活力差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

2.5 对气虚大鼠乳酸含量、LDH 及 CK 活力的影响

见表 4。与正常组比较，模型组大鼠的乳酸含量明显升高，差异有统计学意义(*P* < 0.01)；与模型组比较，补中益气丸组，黄芪多糖高剂量组，10%乙醇沉淀多糖高、低剂量组，40%乙醇沉淀多糖高剂量组，80%乙醇沉淀多糖高、低剂量组大鼠乳酸含量明显下降，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。与正常组比较，模型组大鼠的 LDH 活力的差异无统计学意义(*P* > 0.05)；与模型组比较，各给药组大鼠的 LDH 活力的差异也无统计学意义(*P* > 0.05)。与正常组比较，模型组大鼠的 CK 活力明显升高，差异有统计学意义(*P* < 0.05)；与模型组比较，补中益气丸组，黄芪多糖高、低剂量组，10%乙醇沉淀多糖高剂量组，40%乙醇沉淀多糖高、低剂量组的 CK 活力明显降低，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

2.6 对气虚大鼠 ALB、ATP、ADP 含量的影响 见表 5。

与正常组比较，模型组大鼠的 ALB、ATP 和 ADP 含量明显下降，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)；与模型组比较，补中益气丸组，黄芪多糖高、低剂量组，10%乙醇沉淀多糖低剂量组以及 80%乙醇沉淀多糖低剂量组的大鼠 ALB 含量明显升高，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)，黄芪多糖高、低剂量组，10%乙醇沉淀多糖高剂量组、80%乙醇沉淀多糖高剂量组的 ATP 含量明显升高，差异有统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)，黄芪多糖高、低剂

表 4 黄芪多糖对气虚大鼠乳酸含量、LDH 活力、CK 活力的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effects of Astragalus polysaccharides on lactate, LDH, CK of rats with qi deficiency($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	乳酸 (mmol·L ⁻¹)	LDH 活力 (U·L ⁻¹)	CK 活力 (ng·mL ⁻¹)
正常组	5.05±0.52	477.71±89.92	20.44±6.92
模型组	6.99±0.61**	516.71±70.74	30.02±5.67*
补中益气丸组	5.93±0.75*	482.38±69.54	17.55±6.99**
黄芪多糖高剂量组	6.26±0.50*	489.83±95.00	18.34±1.88**
黄芪多糖低剂量组	6.34±0.79	474.61±78.77	16.45±3.23**
10%乙醇沉淀多糖高剂量组	5.46±1.07*	484.48±76.27	21.14±6.46*
10%乙醇沉淀多糖低剂量组	5.51±0.37**	486.56±72.22	21.49±8.15
40%乙醇沉淀多糖高剂量组	5.11±1.09**	466.20±62.26	17.61±4.97**
40%乙醇沉淀多糖低剂量组	6.04±0.95	462.51±107.79	16.32±3.70**
80%乙醇沉淀多糖高剂量组	5.40±0.92**	445.17±53.27	23.87±4.89
80%乙醇沉淀多糖低剂量组	6.03±0.87*	474.31±75.23	25.56±7.96

注：与空白组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$

表 5 黄芪多糖对气虚大鼠白蛋白(ALB)、三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 5 Effects of Astragalus polysaccharides on ALB, ATP, ADP of rats with qi deficiency($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	ALB/(g·L ⁻¹)	ATP (μmol·g)	ADP (nmol·mg ⁻¹)
正常组	44.06±4.87	311.63±79.38	0.29±0.07
模型组	38.29±4.18*	156.58±54.98**	0.20±0.08*
补中益气丸组	44.26±6.20**	192.69±44.87	0.26±0.06
黄芪多糖高剂量组	49.20±6.91**	235.97±68.03*	0.27±0.02*
黄芪多糖低剂量组	47.44±6.05**	241.03±81.01*	0.27±0.09*
10%乙醇沉淀多糖高剂量组	42.16±5.51	311.38±90.05**	0.30±0.03**
10%乙醇沉淀多糖低剂量组	44.16±5.84*	206.85±53.69	0.30±0.07**
40%乙醇沉淀多糖高剂量组	43.01±6.94	217.80±65.82	0.28±0.06
40%乙醇沉淀多糖低剂量组	43.32±6.24	169.16±59.14	0.26±0.04
80%乙醇沉淀多糖高剂量组	41.40±2.82	281.45±97.42**	0.30±0.05**
80%乙醇沉淀多糖低剂量组	44.58±4.68*	198.93±71.24	0.30±0.06**

注：与空白组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$

量组，10%乙醇沉淀多糖高、低剂量组，80%乙醇沉淀多糖高、低剂量组 ADP 含量明显升高，差异均有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。

3 讨论

气虚最直接和客观的表现是疲劳、运动耐力下降。“人之所受气者，谷也，谷不入半日则气衰，一日则气少矣”（《灵枢·五味篇》），限食可致“气”的生成不足，而“劳则气耗”（《素问·举痛论》）。本实验采用“限制饮食+强迫负重游泳”法制作气虚动物

模型，符合中医基础理论，且实验周期较短，容易控制造模程度。

力竭游泳时间是反映运动耐力的重要指标，给药后各组大鼠表现出较好的运动能力，游泳时间延长，证实了黄芪多糖确有抗运动疲劳的作用，与李珊珊和吴铭报道^[3-4]一致。MDA 是反映机体脂质过氧化代谢和自由基水平的重要指标，是评价疲劳状况最常用的指标之一，当机体长期处于疲劳状态时，MDA 水平升高^[14]。本研究中，气虚大鼠有明显的疲劳状态，其体内 MDA 水平有明显增加，黄芪多糖可以明显减轻其体内的脂质过氧化物，该结果与赵文晓的结果^[15]一致。乳酸是糖酵解的主要代谢产物，在肌肉收缩初始和剧烈收缩时，因氧供应有限，糖酵解速率增快，乳酸也大量增加，乳酸的增加使肌肉中 H⁺ 浓度上升，pH 值下降，进而引起一系列生化变化，是导致疲劳的重要原因^[16]。乳酸在体内的积累取决于乳酸的产生与消除速度，LDH 酶活性升高可以加快乳酸的消除^[17]。本实验采用负重游泳造模，大鼠处于疲劳状态，故模型组大鼠乳酸含量明显增加，LDH 酶活力并未发生改变，但给予黄芪多糖后发现乳酸含量明显降低，可能黄芪多糖可以通过减少乳酸的产生来减少乳酸在体内的积累。白蛋白(ALB) 是人体血浆中的重要载体蛋白，维持机体营养与渗透压，许多水溶性差的物质可以通过与白蛋白结合而被运输，当其含量降低时，提示机体可能存在营养不良的情况，说明气虚模型大鼠物质转运功能失衡；本实验中，模型组白蛋白有明显降低，说明气虚大鼠体内已经存在了物质转运功能失衡、营养不良的状况，给药后，黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖及 80%乙醇沉淀多糖组的白蛋白有明显升高。

气具有护卫肌肤、抗御邪气的功能，气虚时机体的防御功能减弱，也就是机体的免疫力下降。脾脏和胸腺是人体重要的免疫器官，参与人体的细胞免疫和体液免疫，故脾脏指数和胸腺指数是评价机体免疫状态的重要指标^[18-19]。IL-2、IL-12 和 TNF-α 都是与机体免疫和炎症相关的因子，IL-2 主要由活化的 T 细胞分泌，作为 T 细胞活化所必需的“第 3 种”信号，以自分泌的形式与细胞表面的 IL-2 受体的结合，在 T 细胞的活化与增殖中起至关重要的作用^[20]；IL-12 是 Th1 细胞重要的细胞因子。主要的靶细胞是 T 淋巴细胞和 NK 细胞，能抑制特异性 IgE 的产生，可有效抑制或逆转 Th 细胞向 Th2 细胞亚群的分化，并可抑制多种 Th2 类细胞因子如 IL-4、IL-10 等的生成，促进 Th1 型细胞因子如 IL-2、IFN-γ 的产生，

增强 Th1 细胞的免疫应答, 具有广泛的免疫活性, 并能促进炎性组胺释放减少^[21-22]; TNF- α 可促进 T 细胞产生各种炎症因子, 进而促进炎症反应的发生, 同样可反映血管内炎症水平^[23]。本研究中, 模型组大鼠的脾脏和胸腺指数明显低于正常组大鼠, 说明气虚大鼠的免疫功能下降, 从结果可以看到, 黄芪各多糖均可以不同程度地提高脾脏指数, 提高机体免疫力; 同时黄芪多糖、40%乙醇沉淀多糖、80%乙醇沉淀多糖可以明显提高抑炎因子 IL-2、IL-12 水平, 降低促炎因子 TNF- α 水平来调节体内的炎症反应, 提示黄芪多糖能够抑制由这些因子触发的炎症级联反应, 具有提高机体免疫功能的作用。

气不足容易造成脏腑虚损, 心力衰竭、甲状腺机能低下、肾上腺机能低下等均与气虚相关。CK、LDH 等酶的水平变化是心肌细胞受损的重要反映, 帅秋杰^[24]研究发现心肌受损的慢性心力衰竭患者普遍存在 CK、LDH 酶水平升高的现象, 而随着用药后病情的好转, CK、LDH 等多种酶的水平明显降低, 这进一步证实心肌中 CK、LDH 等多种酶水平能有效反映心肌细胞受损的病情严重程度。本实验中, 模型组大鼠的 CK 活力明显增加, LDH 也有升高趋势, 说明气虚大鼠的心肌细胞有一定的损伤。给药后, 黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖、40%乙醇沉淀多糖组对肌酸激酶有较好的降低作用, 且各组的 LDH 活力有下降趋势, 说明黄芪多糖有保护心脏的作用。

气是一种能量, 气虚则能量不足, 而 ATP 和 ADP 是机体内主要能量的直接供给者, 其主要功能是维持细胞膜电位、维持细胞膜的完整性、参与细胞的各种代谢, 对心肌具有保护作用。本实验中, 气虚大鼠的 ATP 和 ADP 均明显降低, 黄芪多糖、10%乙醇沉淀多糖、80%乙醇沉淀多糖组大鼠的 ATP 和 ADP 均有明显的升高, 40%乙醇沉淀多糖组对二者影响不大。

综上所述, 黄芪多糖对气虚大鼠有明显的补气作用, 可以缓解大鼠的疲劳、提高机体免疫力, 其作用途径为减轻体内脂质过氧化、减少乳酸堆积、减轻体内炎症反应, 提高机体能量及调节体内 CK 活力; 3 个分级醇沉多糖对气虚大鼠也有明显的补气作用, 但其发挥作用的机制存在异同点, 显示黄芪多糖补气作用是各多糖成分共同作用的结果。本研究结果可为黄芪多糖的深入开发利用提供实验依据。

参考文献:

- [1] 朱尚文, 魏佳, 许勇镇, 等. 不同产地黄芪中黄芪多糖的含量及其抗疲劳、耐常压缺氧作用[J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(1): 86-89.
- [2] 姜辉, 顾胜龙, 张玉婷, 等. 黄芪化学成分和药理作用研究进展[J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(5): 93-96.
- [3] 李珊珊, 袁婧, 吴剑平, 等. 黄芪多糖抗小鼠疲劳的作用机制研究[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(36): 7052-7055.
- [4] 吴铭, 周桃英, 陈年友, 等. 黄芪多糖抗疲劳作用研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(1): 175-177.
- [5] 于海玲, 李华伟, 李雪花, 等. 复方黄芪多糖对小鼠的抗疲劳和耐缺氧作用[J]. 延边大学医学学报, 2009, 32(3): 160-162.
- [6] 陈思羽, 唐思梦, 王颖, 等. 黄芪多糖对2型糖尿病模型大鼠餐后1 h血糖的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(4): 396-401.
- [7] 袁涛, 梁忠. 气虚证的研究进展[J]. 西部中医药, 2007, 20(5): 11-13.
- [8] 张富婷, 马俊, 惠玲. 高原环境下大鼠力竭运动后急性肾损伤及其新标志物的研究[J]. 西北国防医学杂志, 2018, 39(9): 561-565.
- [9] 陈银芳, 傅应军, 刘超, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的代谢组学法探索补气药干预气虚大鼠的生物学基础[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(2): 191-195.
- [10] 刘文俊, 柴纪严, 谢鑫, 等. 脾气虚大鼠焦虑样行为及其初步机制研究[J]. 中国当代医药, 2017, 24(20): 4-6.
- [11] 罗心遥. 基于谱效关系的茯苓健脾药效物质基础研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [12] 武云, 吴大正, 胡之璧. 黄芪提取物对大鼠负重力竭游泳的抗疲劳作用[J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(1): 36-39.
- [13] 王庆稳. 黄芪山药饮对气虚体质小鼠抗疲劳、抗氧化影响研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
- [14] 宋扬, 徐天舒. 电针补肾益精法对围绝经期血管性痴呆大鼠脑组织SOD、MDA含量的影响[J]. 江苏中医药, 2018, 50(8): 72-74.
- [15] 赵文晓, 李军山, 张亚楠, 等. 黄芪多糖对脾虚水湿不化模型大鼠抗疲劳能力的影响[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(6): 1320-1321.
- [16] 丁玉松, 王忠, 马儒林, 等. 沙枣多糖抗疲劳作用及其机制的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(11): 255-257.
- [17] 李博雅, 房栋栋, 闫坚强. 乳酸与骨骼肌运动性疲劳关系的研究进展[J]. 医学综述, 2016, 22(4): 640-643.
- [18] YANG C, WU C, XU D, et al. Astragaloside II inhibits autophagic flux and enhance chemosensitivity of cisplatin in human cancer cells[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016, 81(1): 166-175.
- [19] AIKEMU A, UMAR A, YUSUP A, et al. Immunomodulatory and antitumour effects of abnormal Savda Munziq on S180 tumour-bearing mice[J]. BMC Complementary & Alternative Medicine, 2012, 12(1): 157.
- [20] 吴贤波, 杜全宇, 梁亚丽, 等. 黄芪多糖对肺气虚模型小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药房, 2012, 23(47): 4417-4418.
- [21] 姜梁, 胡晓艳, 刘莫忠. 乳酸杆菌对过敏性鼻炎大鼠血清IFN- γ 和IL-12含量的影响[J]. 四川医学, 2014, 35(2): 156-158.
- [22] 孙晋茜, 毋桂花. 鼻敏康颗粒对肺气虚变应性鼻炎大鼠IL-4、IL-12的影响[J]. 山西中医学院学报, 2016, 17(2): 20-21, 25.
- [23] 乔亮, 俞瑞群, 叶悦, 等. 自拟生脉汤对PCI术后气虚血瘀型患者CRP, TNF- α , IL-6及ISR的影响[J]. 中医药学报, 2019, 47(6): 90-93.
- [24] 帅秋杰, 陈颖, 李国文. 益心通络饮协定方联合常规西药治疗心肺气虚证慢性心力衰竭53例[J]. 环球中医药, 2018, 11(5): 771-774.

(编辑: 修春)