

基于微生物多样性考察西洋参超微粉饮片的抗疲劳作用和急性毒性

白雪松¹, 刘鹤¹, 宋岩², 律广富³, 叶鸿博¹, 林贺¹, 李银清¹

(1. 长春中医药大学药学院, 吉林长春 130117) (2. 长春中医药大学临床学院, 吉林长春 130117)

(3. 长春中医药大学人参科学研究院, 吉林长春 130117)

摘要: 研究了西洋参超微粉饮片对小鼠抗疲劳作用和急性毒性, 并探究其潜在作用机制。各组小鼠连续灌胃给药 31 d, 期间和给药后测定小鼠体重、行为学指标、生化指标、肠道微生物变化。与空白组比较, 西洋参超微粉饮片组小鼠的转棒时间、跑步距离与爬杆时间均延长, 分别为 31.03%、15.67%、27.77%; 肝糖原和肌糖原、骨骼肌 ATP 都有升高, 分别为 35.78%、29.29%、14.49%。血清中的丙二醛(MDA)、尿素氮(BUN)水平显著降低 24.03%($p<0.05$)、13.27%($p<0.01$), T-SOD 活性升高 12.71%。*Ruminiclostridium_9*($p=0.0367$)、*Oscillibacter*($p=0.0154$)丰度降低, *Turicibacter*($p=0.0001$)丰度增加。胃肠道 HE 无明显病理变化; 一日内给予 KM 小鼠 25.6 g/kg 超微粉饮片, 小鼠体质量、行为和胃肠道病理均无明显变化。结果说明了西洋参超微粉组抗疲劳作用, 比其他两种给药方式好, 与增加能量供应和减少代谢物质蓄积直接相关、可能与改变肠道菌群间接相关; 对 KM 小鼠无急性毒性反应。

关键词: 中药破壁饮片; 急性毒性试验; 西洋参; 抗疲劳; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2020)04-1-8

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.001

Anti-fatigue Effect and Acute Toxicity of American Ginseng Ultrafine Powder Based on Microbial Diversity

BAI Xue-song¹, LIU He¹, SONG Yan², LV Guang-fu³, YE Hong-bo¹, LIN He¹, LI Yin-qing¹

(1.School of Pharmacy, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

(2.School of Clinical Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

(3.Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: The anti-fatigue effect and acute toxicity of American ginseng ultrafine powder on mice were studied, and the potential mechanism of action was explored. The mice in each group were administered with continuous intragastric administration for 31 days. The body weight, behavioral index, biochemical index and intestinal microbial changes were measured during and after the administration. Compared with the blank group, the time of the rod, the running distance and the climbing time of mice in the American ginseng ultrafine powder group were prolonged, which were 31.03%, 15.67%, and 27.77%, respectively; hepatic glycogen and muscle glycogen, skeletal muscle ATP were increased by 35.78%, 29.29%, and 14.49%, respectively. The levels of MDA and BUN in serum were significantly decreased by 24.03% ($p<0.05$) and 13.27% ($p<0.01$), respectively, and T-SOD activity was increased by 12.71%. *Ruminiclostridium_9* ($p=0.0367$) and *Oscillibacter* ($p=0.0154$) abundance decreased, and *Turicibacter* ($p=0.0001$) abundance increased. There was no obvious pathological change in HE in the gastrointestinal tract; 25.6 g/kg of ultrafine powder tablets were administered to KM mice within one day, and there was no significant change in body mass, behavior and gastrointestinal pathology. The results showed that the anti-fatigue effect of American ginseng ultrafine powder group was better than the other two modes of administration, which was directly related to increasing energy supply and reducing the accumulation of

引文格式:

白雪松,刘鹤,宋岩,等.基于微生物多样性考察西洋参超微粉饮片的抗疲劳作用和急性毒性试验[J].现代食品科技,2020.36(4):1-8

BAI Xue-song, LIU He, SONG Yan, et al. Study on anti-fatigue effect and acute toxicity of American ginseng ultrafine powder based on microbial diversity [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 1-8

收稿日期: 2019-10-21

基金项目: 吉林省科技发展项目 (20190201153JC)

作者简介: 白雪松 (1993-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理学

通讯作者: 李银清 (1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药药理学

metabolic substances, and may be indirectly related to the change of intestinal flora; no acute toxicity to KM mice was observed.

Key words: ultrafine powder of herbal medicine; acute toxicity; American ginseng; anti-fatigue; intestinal flora

疲劳(fatigue)是机体的一个复杂的生理生化过程,它是当大脑或身体的体力达到某一特定状态时发生的一种生理现象^[1]。随着社会的进步和居民生活节奏的加快,疲劳已变得极为普遍,越来越受到重视。近年来,肠-脑轴等相关前沿研究不计其数,表明肠道菌群与机体的营养吸收和疾病直接相关,在宿主代谢和维持宿主健康中起到至关重要的作用^[2]。肠道微生物提供的基因及代谢特性不是人类的基因组所编码,被看作是一个虚拟器官参与调节宿主能量动态平衡,可调节葡萄糖和脂质代谢^[3],或许与维持机体能量代谢有一定的关联。

传统中药材在我国疾病防治中发挥着重中之重的作用^[4],煎煮是中药实践中最早也是最流行的制剂方式,传统处方中各组分可根据患者的病情和中医辨证论治原则进行调整^[5]。但是,煎煮法也存在如炮制所需的时间较长,实际应用困难等缺点限制于临床使用。中药超微粉饮片可克服传统中药的缺点,伴随着超细粉碎技术的发展应运而生^[6],可冲泡、煎煮或加水搅拌成混悬状液体的方式给药。超微粉饮片为打破细胞壁的原饮片,活性的溶出度明显增加、生物利用度显著提高^[7]。但超微粉饮片的有效性和安全性成为关注点。

西洋参具有抗疲劳作用,常年应用于日常保健与临床^[8]。本研究通过把西洋参超微粉碎,基于西洋参的功效有抗疲劳作用,以 C57BL/6 小鼠为模型,将超微粉饮片与传统饮片或粗粉进行比较考察其有效性并研究西洋参破壁饮片的抗疲劳作用是否与肠道菌群变化相关。对 KM 小鼠进行急性毒性试验^[9],考察西洋参破壁饮片的安全性。

1 材料与方法

1.1 原料

西洋参超微粉饮片,购自东方红(通化)生物医药有限公司;雄性 C57BL/6 小鼠、雌性各半 KM 小鼠,8 周龄,生产许可证号为 SCXK(吉)-2015-0005 及 SCXK(吉)-2018-0007,长春市亿斯实验动物技术有限公司。

1.2 实验试剂与仪器

1.2.1 实验试剂

切片石蜡等,北京索莱宝科技有限公司;总超氧

化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)、尿素氮(BUN)及糖原测试盒,南京建成生物工程研究所;BCA 蛋白定量与 ATP 的检测盒,碧云天生物科技有限公司。

1.2.2 主要仪器设备

500 型精密电子天平,双杰兄弟有限公司;小鼠跑步机、转棒仪、爬杆架,泰盟科技有限公司;ELx800 型全自动酶标仪, BioTek 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 超微粉饮片抗疲劳作用

1.3.1.1 动物分组与药物的配制

雄性 C57BL/6 小鼠 48 只,适应性喂养 7 d,随机分为西洋参等临床剂量超微粉饮片组(超微饮片组, A)、西洋参等临床剂量超微粉饮片组(1/2 超微饮片组, B)、1/4 西洋参等临床剂量超微粉饮片组(1/4 超微饮片组, C)、西洋参等临床剂量传统饮片组(传统饮片组, Y)和等临床剂量传统粉末组(传统粉末组, F)、空白组(K)。西洋参的临床常用量为 1.0 g/kg,对照组给予温开水,传统饮片为煎煮方法,粗粉和破壁粉为开水冲泡后放凉给药,每天一次,连续给 31 d,给药体积为 20 mL/kg。

1.3.1.2 体质量的测定

C57BL/6 小鼠在给药期间,每日在同一时间进行一次体质量测定。

1.3.1.3 跑步实验

小鼠给药 21 d 后,跑步机训练连续 3 d。第 24 d 给药后 30 min,将小鼠放置于小鼠跑步机跑道中,设置转速为 21 m/min,定时 1 h,记录其跑步时间和跑步距离。

1.3.1.4 转棒实验

小鼠给药后的第 26 d 开始连续转棒训练 2 d。在第 27 d 给药隔 30 min 后,将小鼠放进转棒仪的通道中,以 18 r/min 的速度来测定 180 s 内小鼠在转棒掉落的时间。如过程中小鼠不掉落,则转棒时间为 180 s。

1.3.1.5 爬杆实验

在第 28 d 时,连续爬杆训练 2 d,第 30 d 给药隔 30 min,把小鼠放置于爬杆架上,让小鼠肌肉处紧张状态,记录累计三次的落水总时间。

1.3.1.6 生理化学指标检测与组织病理学检查

给药结束后,麻醉眼球取血后得血清,用生化试剂盒测 T-SOD、MDA、BUN 水平。剖检小鼠,经肉眼观察是否异常和可疑病变。取胃部和肠部组织,进

行病理切片, HE 染色后观察胃肠道的病理变化。取 C57BL/6 小鼠肝脏与股四头肌, 置液氮中速冻 30 min 后在 -80 °C 冻存, 测定肌糖原、肝糖原、骨骼肌 ATP 含量。

1.3.1.7 小鼠肠道微生物多样性检测

上述小鼠取肠道内容物液氮速冻 5 min 后, 于 -80 °C 冻存。使用 Illumina Miseq 平台进行细菌 16 s rRNA V3+V4 区测序。根据测序全部序列数的 0.005% 作为阈值进行过滤 OTU^[10], 作韦恩图表示。用 Shannon 指数估算群落多样性, 作 Shannon 曲线^[11]。用等级丰度曲线表示样品含有物种的丰富度与均匀度^[12]。使用 Metastats^[13]对组间的物种丰度数据 t 检验, 挑选出各组样品组成差异物种, 标准化处理 OUT 数据后, 选位列前 20 个数目最多物种, 基于 R heatmap 作出热图。

1.3.2 KM 小鼠急性毒性实验

1.3.2.1 急性毒性实验

使用纯净水混悬西洋参超微粉饮片, 混悬至最浓又刚好能用小鼠灌喂器抽取灌喂, 西洋参超微粉饮片浓度为 0.32 g/mL。小鼠的灌喂给药最大给药体积为 40 mL/kg, 故最大给药剂量西洋参为 25.6 g/kg。经预试验, 因浓度及给药体积限制, 不能够测得 LD₅₀, 给最大给药量进行实验。随机分为空白组与西洋参超微粉饮片组, 每组各 20 只, 雌性各半, 口服给药 2 次, 2 次间隔 5 h, 对照组给予等量凉开水。观察 14 d, 每天称量体重并且观察形态。

1.3.2.2 KM 小鼠剖检和胃肠道 HE 病理学

最大给药量给药后观察 14 d 结束, 剖检小鼠, 进行肉眼观察是否有异常及可疑病变。取胃部和肠部组织, 用 10% 甲醛固定及 HE 染色后, 进行病理切片观察给药后胃肠道组织切片的变化。

1.4 统计学分析

用均值±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示用 SPSS 22.0 的软件分析得到的数据, 单因素方差分析组间差异, $p < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 超微粉饮片抗疲劳作用

2.1.1 超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠体质量的影响

体重是影响运动能力的重要因素, 在 C57BL/6 小鼠 30 d 给药期间, 对小鼠的体质量进行了检测, 体重变化如图 1 所示。各组体质量无明显差异, 且趋于平稳, 维持在 25 g 左右, 西洋参超微粉饮片与传统饮片、传统粗粉一样对 C57BL/6 小鼠体质量无明显影响; 说

明西洋参超微粉饮片不通过降低小鼠体重来提高运动能力, 小鼠跑步、转棒和爬杆的结果具有可比性。

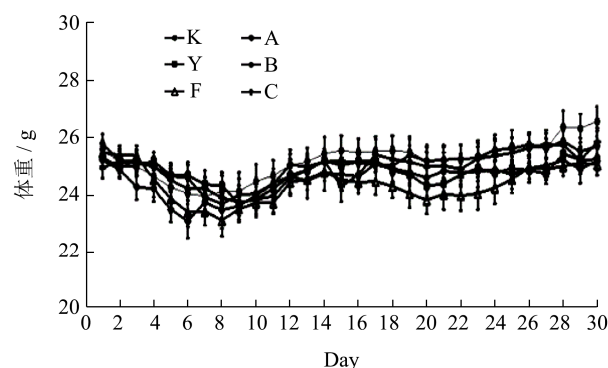


图 1 西洋参超微粉饮片对 C57BL 小鼠体重的影响

Fig.1 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on body weight of C57BL/6 mice

注: A: 等临床剂量超微饮片组; B: 1/2 等临床剂量超微饮片组; C: 1/4 临床剂量超微饮片组; Y: 等临床剂量传统饮片组; F: 等临床剂量传统粉末组; C57BL/6 小鼠给药 30 d 体重; 与空白组相比, 无明显差异。

2.1.2 西洋参超微粉饮片对小鼠跑步、转棒和爬杆的影响

表 1 西洋参超微粉饮片对小鼠跑步、转棒和爬杆的影响

Table 1 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on running, turning rods and climbing rods in C57BL/6 mice

组别	转棒时间/s	跑步距离/m	爬杆时间/s
空白组	116±28	938±76	288±39
传统饮片组	131±30	1029±97	343±48
传统粉末组	148±26	1070±127	357±57*
超微饮片组	152±28*	1085±39*	368±60**
1/2 超微饮片组	147±26*	1049±121*	349±74*
1/4 超微饮片组	130±29	1041±168	312±42

注: 与空白组相比较, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

由表 1 可以看出, 与空白组比较, 西洋参超微粉饮片组和 1/2 西洋参超微粉饮片组小鼠的转棒时间、跑步距离与爬杆时间均延长, 分别为 31.03% ($p < 0.05$)、15.67% ($p < 0.05$)、27.77% ($p < 0.01$); 与传统饮片组相比, 西洋参超微粉饮片组可使小鼠跑步距离、转棒时间及爬杆时间延长, 分别为 16.03%、5.15%、7.29%。与传统粉末组相比, 西洋参超微粉饮片组可使小鼠跑步距离、转棒时间及爬杆时间延长, 分别为 2.70%、1.40%、3.08%。跑步是测定小鼠运动的能力, 转棒是检测运动的平衡和协调能力, 爬杆是考察肌肉的力量。从三个方面考察小鼠疲劳程度^[14]。已有实验表明西洋参具有抗疲劳作用^[8], 但只做了游泳实验, 不能系统表明西洋参抗疲劳作用。本实验系统考察西洋参超微粉饮片对 C57BL 小鼠的运动能力、

运动的平衡和协调能力、肌肉力量的促进作用。

2.1.3 超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠肝糖原、肌糖原、骨骼肌 ATP 水平的影响

通过“能量消耗理论”，运动引起的血糖和糖原含量的下降是导致疲劳的主要原因^[15]，糖原消耗，将影响运动的耐力。ATP 分子是生命中最直接的能量来源，可以为细胞代谢提供能量，并且是负责化学能量的储存和转移^[16]。因此糖原和 ATP 含量可以作为反映疲劳程度的重要指标^[17]。试验结果显示（表 2），与空白组比较，超微饮片组和小鼠的肝糖原和肌糖原、骨骼肌 ATP 都有升高，分别增加了 35.78%、29.29%、14.49%，

差异有统计学意义（ $p<0.05$ 或 $p<0.01$ ）；与传统饮片组相比，西洋参超微粉饮片组小鼠的肌糖原和 ATP 水平升高 11.99%、14.09%，差异有统计学意义（ $p<0.05$ ）。与传统粉末组相比，西洋参超微粉饮片组小鼠的肝糖原和肌糖原、骨骼肌 ATP 升高 7.22%、2.40%、10.86%。以往只从代谢产物的角度考察西洋参超微粉饮片抗疲劳的作用^[18]，本结果从能量供应的角度，考察西洋参超微粉饮片抗疲劳的效果。实验结果说明了西洋参超微粉饮片可明显提高骨骼肌 ATP、肝糖原和肌糖原的活性，进而提高小鼠能量的供应、而具有一定抗疲劳作用。

表 2 西洋参超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠肝糖原、肌糖原、肌肉和肝脏 ATP 水平的影响

Table 2 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on ATP levels of liver glycogen, muscle glycogen and skeletal muscle in C57BL/6 mice

组别	肝糖原/(nmol/L)	肌糖原/(nmol/L)	骨骼肌 ATP/(nmol/mg)
空白组	6.12±0.77	0.99±0.05	560.49±73.79
传统饮片组	7.42±0.60	1.18±0.09	562.42±83.63
传统粉末组	7.75±0.86	1.25±0.10	578.81±67.09
超微饮片组	8.31±0.93 ^{***}	1.28±0.12 ^{**}	641.71±97.63 ^{##}
1/2 超微饮片组	6.80±0.83	1.12±0.09 [*]	573.22±66.71
1/4 超微饮片组	6.38±0.47	1.05±0.06	557.41±62.40

注：与空白组相比，* $p<0.05$ ，** $p<0.01$ ；与传统饮片组相比，# $p<0.05$ 。

2.1.4 超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠血清 T-SOD、MDA、BUN 水平的影响

结果显示（表 3），与空白组比较，西洋参超微粉饮片组小鼠血清中的 MDA、BUN 水平显著降低了 24.03%（ $p<0.05$ ）、13.27%（ $p<0.01$ ），T-SOD 活性升高 12.71%；与传统饮片组相比，西洋参超微粉饮片组小鼠血清中的 MDA、BUN 水平降低了 11.98%、7.27%、T-SOD 活性升高了 10.24%。与传统饮片组相比，西洋参超微粉饮片组小鼠血清中的 MDA、BUN 水平降低了 5.95%、2.58%、T-SOD 活性升高了 9.46%，差异无统计学意义。西洋参超微粉饮片能有效降低 MDA、BUN，升高 T-SOD 含量，且优于传统饮片和

传统粗粉效果。尿素氮由蛋白质和氨基酸的代谢产生，运动中机体蓄积的尿素氮是疲劳的关键因子。SOD 和 MDA 是反映机体氧化的关键，MDA 为产生的氧自由基。SOD 可以清除自由基保护细胞受损，西洋参超微粉饮片组 SOD 增多和 MDA 减少则证明机体细胞有抗衰老的作用，机体细胞活性好，运动能力强，不宜疲劳。以往的抗疲劳作用研究只从能量供应和代谢产物蓄积进行考察^[19]，本研究把西洋参超微粉饮片从氧化与抗氧化的角度解释其抗疲劳作用，故西洋参破壁饮片可通过降低 MDA、BUN，升高 T-SOD 含量，而具有抗疲劳活性。

表 3 西洋参超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠血清 T-SOD、MDA、BUN 水平的影响

Table 3 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on serum T-SOD, MDA and BUN levels in C57BL/6 mice

组别	BUN/(mmol/L)	T-SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)
空白组	18.23±0.85	84.02±14.19	3.12±0.55
传统饮片组	17.05±1.41	85.90±15.27	2.69±0.63
传统粉末组	16.23±1.64	86.51±14.79	2.52±0.79
超微粉饮片组	15.81±1.30 ^{**}	94.70±17.35	2.37±0.58 [*]
1/2 超微粉饮片组	16.29±1.15	85.97±12.74	2.76±0.83
1/4 超微粉饮片组	17.74±1.15	84.96±14.59	2.78±0.68

注：与空白组相比，* $p<0.05$ ，** $p<0.01$ 。

2.1.5 C57BL/6 小鼠剖检与组织病理学变化

剖检小鼠，均未发现任何异常和可疑病变。小肠

和胃组织进行病理学检查(图2-3),超微粉饮片组小鼠胃粘膜未变薄、腺体正常、固有层无炎细胞浸润、腺上皮未出现化生现象;西洋参超微饮片组小鼠肠道粘膜无明显病变、肠壁下层无明显淋巴细胞浸润等炎

症现象。总体说明了西洋参超微粉饮片31 d口服给药,对小鼠胃肠道无明显损害作用,故口服给药安全。传统粗粉虽然也无胃肠道损伤作用,但口服有异物感,患者顺应性不佳。

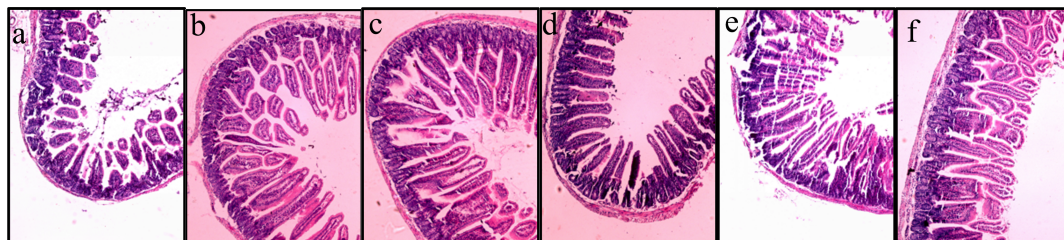


图2 西洋参超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠小肠组织病理学的影响(×100)

Fig.2 Effect of ultrafine granular powder of *Panax quinquefolium* on small intestine pathology in C57BL/6 mice

注: d: 等临床剂量超微粉饮片组; e: 1/2 等临床剂量超微粉饮片组; f: 1/4 临床剂量超微粉饮片组; b: 等临床剂量传统饮片组; c: 等临床剂量传统粉末组; 与空白组 a 组相比,无明显差异。

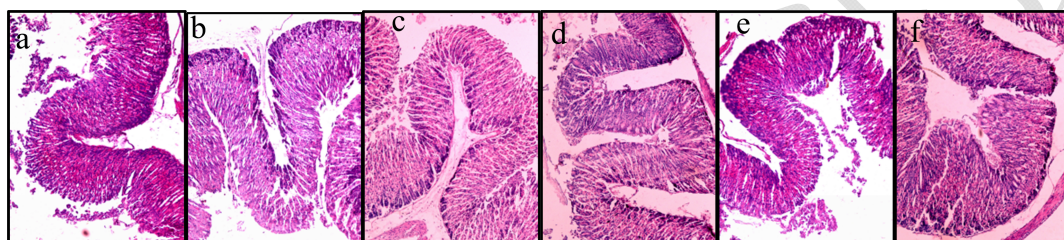


图3 西洋参超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠胃组织病理学的影响(×100)

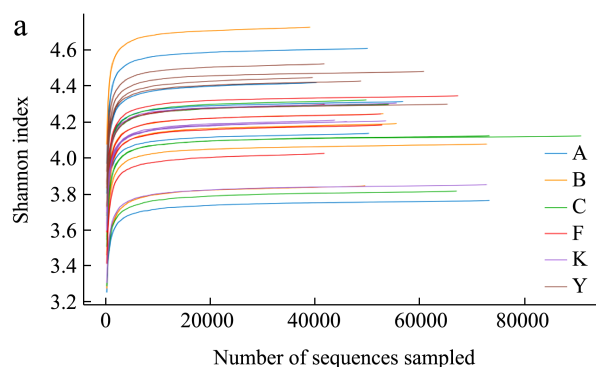
Fig.3 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on gastric Pathology in C57BL/6 mice

注: d: 等临床剂量超微粉饮片组; e: 1/2 等临床剂量超微粉饮片组; f: 1/4 临床剂量超微粉饮片组; b: 等临床剂量传统饮片组; c: 等临床剂量传统粉末组; 与空白组 a 组相比,无明显差异。

2.1.6 西洋参超微粉饮片对 C57BL/6 小鼠肠道菌群的影响^[20]

结果显示,韦恩图表明(图4, III),各组共有的 OTU 数目为 373 个,各组基本无特有 OTU。等级丰度曲线的(图4, II)宽并平坦表示各组物种的组成丰富和均匀度好。Shannon 曲线趋(图4, I)近平坦,即测序数据量足够大,样品中大多数的微生物信息被反映。Metastats 分析,发现给药组与空白组的优势种群有 3 个差异属,做出属水平丰度热图和物种分类图,含量排在 20 种内的差异菌群(图4, IV) *Ruminiclostridium_9* (含量降低, $p=0.0367$)、*Oscillibacter* (含量降低, $p=0.0154$), *Turicibacters* (含量增高, $p=0.0001$)。众所周知,机体的营养吸收、养分利用和病害与肠道菌群直接相关^[21]。肠道菌群的丰富程度也取决于宿主基因型,基因型可以改变肠道营养分配方式^[22]。肠道的微生物可通过调节对营养吸收来影响宿主的营养状况^[23]。血杆菌属(*Turicibacters*) 在人和动物的胃肠道和粪便中普遍存在^[24],但其系统

发育、生态作用和致病潜力尚不清楚。*Oscillibacter* 属^[25],在饮食型肥胖小鼠肠道中增加,可能与营养物质吸收相关。瘤胃梭菌属(*Ruminiclostridium_9*),属于疣微菌科,口服肝素可使其丰度减少,目前对机体影响尚未有系统的研究^[26]。本研究表明等临床剂量西洋参超微粉在属水平上改变 *Oscillibacter*、*Ruminiclostridium_9*、*Turicibacters* 的物种丰度,改变肠道菌群结构,或许是抗疲劳作用的潜在靶点。



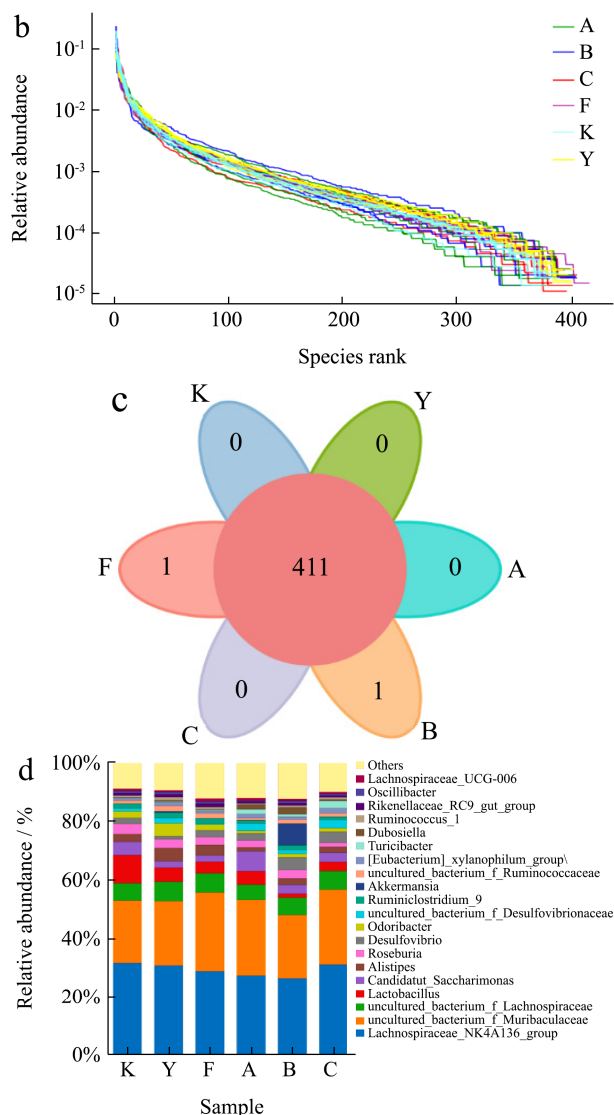


图4 C57BL/6小鼠肠道菌群检测结果

Fig.4 Detection of intestinal flora in C57BL/6 mice

注：图 a 香浓曲线；图 b 等级丰度曲线；图 c 韦恩图；图 d 物种分布柱状图。A：等临床剂量超微粉饮片组；B：1/2 等临床剂量超微粉饮片组；C：1/4 临床剂量超微粉饮片组；Y：等临床剂量传统饮片组；F：等临床剂量传统粉末组；与空白组相比，无明显差异。

2.2 西洋参超微粉急性毒性试验结果

在 KM 小鼠最大剂量给药期间，对小鼠的体质量进行了检测（图 5），各组体质量无明显差异，均平稳增长，说明西洋参破壁粉饮片对 KM 小鼠体质量无明显影响。14 d 内，小鼠都无死亡，行为活动和进食正常、体重正常生长；没有出现任何毒性反应，一日内给予 25.6 g/kg 的最大给药量，于成年人临床用量 0.1 g/kg 的 250 多倍，因此认为西洋参超微粉饮片在临床常用剂量范围之内，口服使用是安全的。

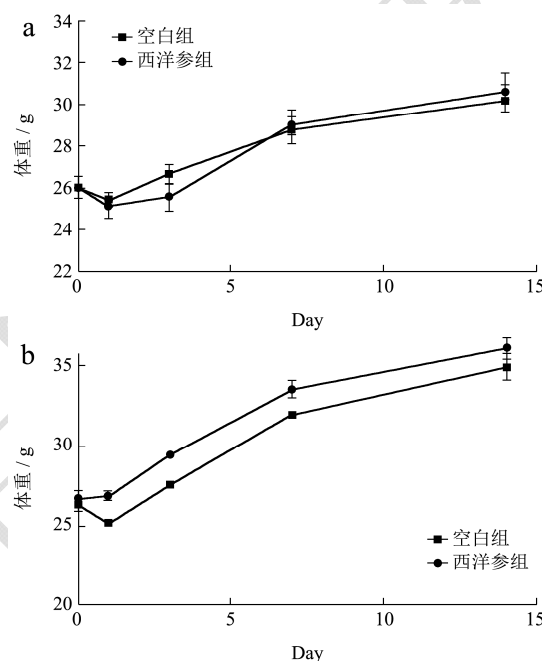


图5 西洋参超微粉饮片对 KM 小鼠体重的影响

Fig.5 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on body weight of KM mice

注：a：雌性小鼠；b：雄性小鼠；与空白组相比，无明显差异。

2.3 KM 小鼠剖检与 HE 检查

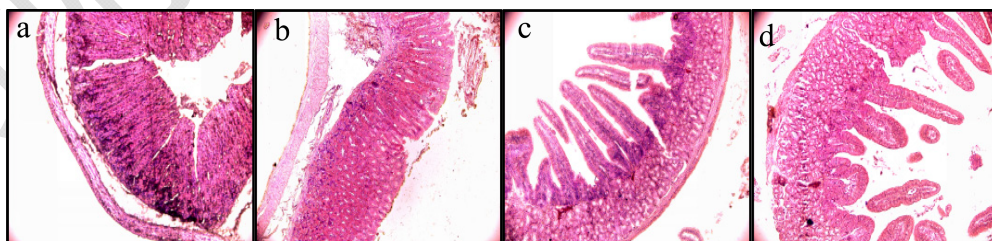


图6 西洋参超微粉饮片对 KM 小鼠胃肠道组织的影响 (×100)

Fig.6 Effect of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* on gastrointestinal in KM mice

注：与空白组相比，无明显差异。a：空白组胃；b：西洋参组胃；c：空白组肠；d：西洋参组肠。

剖检 KM 小鼠，心、肝、肾等重要脏器均未发现异常或可疑病变。对小鼠的肠和胃组织病理学检查

（图 6），超微粉饮片组小鼠胃粘膜未变薄、腺体正常、固有层无炎细胞浸润、腺上皮未出现化生现象；西洋

参超微饮片组小鼠肠道粘膜无明显病变、肠壁下层无明显淋巴细胞浸润等炎症现象。西洋参超微粉饮片组小鼠胃肠道未发现病理学异常,所以西洋参超微粉饮片对小鼠无急性毒性试验,且无胃肠毒性。

3 结论

对 C57BL/6 小鼠以冲泡方式给西洋参超微粉饮片,通过小鼠的转棒时间、跑步距离、爬杆时间进行对比分析,发现长期服用西洋参破壁饮片具有抗疲劳作用,其作用与能量的供应和代谢物质的蓄积直接相关;可能与其改变肠道微生物丰度及结构间接相关。该研究结果揭示了肠道菌群可能是西洋参破壁饮片抗疲劳新的作用靶点。使用 KM 小鼠进行急性毒性试验,表明口服给药对 KM 小鼠是安全的。在此背景下,若将西洋参超微粉饮片研发成具有功能性的食品,将带动超微粉饮片产业的快速发展。

参考文献

- [1] Xiang-Dan L, Feng-Guang P, Tie-Hua Z, et al. Effects of pilose antler polypeptide on ability of mice anti-anoxia and anti-fatigue [J]. Food Science, 2008, 29(4): 386-388
- [2] Chaston J M, Newell P D, Douglas A E. Metagenome-wide association of microbial determinants of host phenotype in *Drosophila melanogaster* [J]. Mbio, 2013, 5(5): e01631
- [3] Salazar N, Arboleya S, Valdés L, et al. The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations [J]. Frontiers in Genetics, 2014, 5: 406
- [4] Li W F, Jiang J G, Chen J. Chinese medicine and its modernization demands [J]. Archives of Medical Research, 2008, 39(2): 246-251
- [5] Luo H, Li Q, Flower A, et al. Comparison of effectiveness and safety between granules and decoction of Chinese herbal medicine: A systematic review of randomized clinical trials [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 140(3):0-567
- [6] Zhang M, Zhang C J, Shrestha S. Study on the preparation technology of superfine ground powder of *Agrocybe chaxingu* Huang [J]. Journal of Food Engineering, 2005, 67(3): 333-337
- [7] Rao T, Gong, Yu - Feng, et al. Comparative pharmacokinetic study on three formulations of *Astragali radix* by a LC - MS/MS method for determination of formononetin in human plasma [J]. Biomedical Chromatography, 2019, 33(5): e4563
- [8] 侯集瑞,张慧珍,陈芳,等.西洋参超微粉对小鼠耐缺氧和抗疲劳作用的研究[J].吉林农业大学学报,2006,28(4):419-420
- [9] HOU Ji-rui, ZHANG Hui-zhen, CHEN Fang, et al. Effect of supper fine particles of *Panax quinquelium* on hypoxia tolerance and anti-fatigue of mice [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2006, 28(4): 419-420
- [10] 吴国泰,杜丽东,王瑞琼,等.当归润肠茶润肠通便功能和急性毒性研究[J].现代食品科技,2018,34(2):59-62,58
- [11] WU Guo-tai, DU Li-dong, WANG Rui-qiong, et al. Laxative function and acute toxicity of Danggui runchang tea [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(2): 59-62, 58
- [12] Bokulich N A, Subramanian S, Faith J J, et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing [J]. Nature Methods, 2012, 10(1): 57-59
- [13] Wang Y, Sheng H F, He Y, et al. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of Illumina tags [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2012, 78(23): 8264
- [14] K  ljalg U, Nilsson R H, Abarenkov K, et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi [J]. Molecular Ecology, 2013, 22(21): 5271-5277
- [15] Znglis, James. Specification sarcher: Ad Hoc inference with nonexperimental data [J]. Technometrics, 1981, 23(1): 112-113
- [16] Dougherty J P, Wolff B S, Cullen M J, et al. Taltirelin alleviates fatigue-like behavior in mouse models of cancer-related fatigue [J]. Pharmacological Research, 2017, 124: 1-8
- [17] Dongsheng Yang, Junhui Lian, Lanying Wang, et al. The anti-fatigue and anti-anoxia effects of tremella extract [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019
- [18] Miao M, Jiang M, Zhang X. Effects of Shenqi pollen tablets on exercise-induced fatigue in rats [J]. Chin. J. Exp. Formulas, 2014, 20(5): 177-179
- [19] Jie Z, Rong Z. Effects of aerobic exercise on skeletal muscle glycogen and exercise endurance in rats with chronic heart failure [J]. Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice, 2015, 21(4): 426-431
- [20] 张学平,牛丽颖,刘姣,等.西洋参不同粒径超微粉抗疲劳作用比较研究[J].河北中医药学报,2007,3:39-40,48
- [21] ZHANG Xue-ping, NIU Li-ying, LIU Jiao, et al. Comparative study on anti-fatigue effect of different size ultrafine powders of American ginseng [J]. Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine, 2007, 3: 39-40, 48
- [22] 沈晨,蒋立勤,顾小燕等.红景天复合饮料的抗疲劳作用研

- 究[J].现代食品科技,2011,27(5):520-523
- SHEN Chen, JIANG Li-qin, GU Xiao-yan, et al. Study on anti-fatigue effects of rhodiola compound drink [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(5): 520-523
- [20] 崔芳,史春丽,尹梅,等.枸杞多糖对过敏性哮喘小鼠肠道菌群的影响[J].现代食品科技,2019,35(9):67-73
- CUI Fang, SHI Chun-li, YIN Mei, et al. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on gut microbiota in allergic asthmatic mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(9): 67-73
- [21] Blaut M, Collins MD, Welling GW, et al. Molecular biological methods for studying the gut microbiota: The EU human gut flora project [J]. Br J Nutr, 2002, 87(Suppl 2): S203-S211
- [22] Chaston J M, Newell P D, Douglas A E. Metagenome-wide association of microbial determinants of host phenotype in *Drosophila melanogaster* [J]. Mbio, 2013, 5(5): e01631
- [23] Chaston J M, Dobson A J, Newell P D, et al. Host genetic control of the microbiota mediates drosophila nutritional phenotype [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015: AEM.03301-15
- [24] Auchtung T A, Holder M E, Gesell J R, et al. Complete genome sequence of *Turicibacter* sp. strain H121, isolated from the feces of a contaminated germ-free mouse [J]. Genome Announcements, 2016, 4(2): e00114-16
- [25] Yan Y L, Ha C W Y, Campbell C R, et al. Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice [J]. Plos One, 2012, 7(3): e34233
- [26] 周雪,王怡,何东,等.口服肝素与小鼠肠道菌群的相互作用[J].生物工程学报,2019,35(9):1736-1749
- ZHOU Xue, WANG Yi, HE Dong, et al. Interaction between orally administrated heparin and intestinal microbiota in mice [J]. Journal of Bioengineering, 2019, 35(9): 1736-1749
-
- (上接第 30 页)
- [16] 春容燕,苏学军.三氯化铝比色法测定稻壳中总黄酮含量的方法研究[J].化学工程师,2017,31(10):66-69
- ZONG Chun-yan, SU Xue-jun. Study on the determination method of total flavonoids from rice husk by $AlCl_3$ colorimetry [J]. Chemical Engineer, 2017, 31(10): 66-69
- [17] 石甜甜,李晶晶,林春风,等.尾巨桉树皮提取物抗氧化活性及其成分分析[J].食品工业科技,2019,40(1):23-28
- SHI Tian-tian, LI Jing-jing, LIN Chun-feng, et al. Analysis of antioxidant activity and active components of *Eucalyptus urophylla*×*Eucalyptus grandis* bark extrat [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(1): 23-28
- [18] 田勇,周督,邹双忆,等.昆仑雪菊水溶性黄酮提取物对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆障碍的改善作用[J].食品科学,2019,40(1):162-168
- TIAN Yong, ZHOU Du, ZOU Shuang-yi, et al. Water soluble flavonoids from *Coreopsis tinctoria* flowers improve learning and memory ability in D-galactose-induced aging mice [J]. Food Science, 2019, 40(1): 162-168
- [19] 孙露,田文杨,丛佳林,等.益消方对自发性糖尿病模型 KKAY 小鼠认知功能影响的 Morris 水迷宫观察[J].世界中医药,2019,14(2):336-339,344
- SUN Lu, TIAN Wen-yang, CONG Jia-lin, et al. Effects of yixiao decoction on the cognitive function of KKAY mice with spontaneous diabetes mellitus in Morris water maze [J]. World Chinese Medicine, 2019, 14(2): 336-339, 344
- [20] 宋慧,马利华,陈学红,等.山楂复合果醋发酵工艺的研究[J].食品工业科技,2014,35(23):95-99,106
- SONG Hui, MA Li-hua, CHEN Xue-hong, et al. Research of fermentation conditions of compound hawthorn fruit vinegar [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(23): 95-99, 106
- [21] Ho Sc, Liu Jh, Wu Ry. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose [J]. Biogerontology, 2003, 4(2): 15-18
- [22] 高志明,罗杨合,陈振林.荸荠皮果醋抗氧化效果的小鼠实验研究[J].中国调味品,2016,41(5):30-32,50
- GAO Zhi-ming, LUO Yang-he, CHEN Zhen-lin. Research on the antioxidant activity of *Eleocharis tuberosa* peel fruit vinegar through the experiment with mice [J]. China Condiment, 2016, 41(5): 30-32, 50
- [23] Tucker Lb, Velosky Ag, McCabe Jt, et al. Applications of the Morris water maze in translational traumatic brain injury research [J]. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2018, 88: 187-200
- [24] 罗秀丽,杨颖,陆胜民,等.发酵方式对柿果醋感官与营养品质的影响[J].食品科学,2016,37(19):154-159
- LUO Xiu-li, YANG Ying, LU Sheng-min, et al. Effect of fermentation methods on sensory and nutritional quality of persimmon vinegar [J]. Food Science, 2016, 37(19): 154-159