

# “复方补益汤”对长期运动大鼠血浆 Val、Leu、Ile 的影响

刘晨

(广州中医药大学 体育健康学院, 广东 广州 510006)

**摘 要:** 探索中药“补益汤”对血浆中支链氨基酸 Val、Leu、Ile 的积极影响。运用运动生物化学方法对大鼠建立实验模型, 采用游泳训练并将大鼠分为安静对照组、训练对照组、安静中药组、训练中药组。实验 10 周后取材, 液相色谱法检测大鼠血浆中缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)的浓度变化。结果发现, 以补血、补阴类为主的复方补益药符合辩证施治的原则, 对运动疲劳大鼠有积极恢复作用。服用“复方补益汤”大鼠在安静状态与训练状态下亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)增加明显, 提高了大鼠机体运动训练能力与运动训练后恢复能力。

**关 键 词:** 运动生化; 复方补益汤; 支链氨基酸; 运动性中枢疲劳; 大鼠

中图分类号: G804.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2008)06-0104-04

## Effects of “Complex Invigoration Tonic” on Val, Leu and Ile in blood plasma of rats exercising over a long period of time

LIU Chen

(School of Physical Education and Health, Guangzhou TCM University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** In order to probe into the effects of “Invigoration Tonic”, a traditional Chinese medicine, on Val, Leu and Ile of branched chain amino acid in blood plasma, the author applied a kinetic biochemical method to establish an experimental model for the rats, trained the rats for swimming, divided the rats into a calm control group, a trained control group, a calm and tonic taken group, and a trained and tonic taken group, tested the change of concentration of valine (Val), leucine (Leu) and isoleucine (Ile) in blood plasma of the rats by means of liquid chromatography after 10 weeks of experiment, and revealed the following findings: the complex invigoration tonic used mainly for blood and Yin invigoration is in conformity with the principle of dialectical treatment, playing a positive role in the recovery of the rats from kinetic fatigue; Leu and Ile of rats taking “Complex Invigoration Tonic” increased significantly under calm and trained conditions; “Complex Invigoration Tonic” has enhanced the capacity of the rats’ body for sports training and recovery after sports training.

**Key words:** kinetic biochemistry; complex invigoration tonic; branched chain amino acid; kinetic central nervous fatigue; rat

运动性中枢疲劳与血浆缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)关系密切。它们在体内氧化分解产生 ATP 的效率高于其它氨基酸, 在特殊生理时期(如运动、饥饿)时, 是体内重要的能量来源。长时间较大强度运动时血液中的氨基酸物质直接提供能量作用于骨骼肌, 维持肌肉的收缩。近年来有研究证明, 补充支链氨基酸 BCAA 等物质缓解中枢疲劳在动物实验中得到进一步证明<sup>[1]</sup>。

目前大多中药抗运动疲劳的研究多从“补气助阳”

入手, 应用“养阴”方法抗运动性疲劳的研究报道还很少。而从中医整体观出发, 阴虚内热也是导致运动性疲劳发生的重要机制。“复方补益”中药是现今运动疲劳恢复的常见中药, 其主要功效在于补虚益损、扶正固气, 有所谓“正气存内, 邪不可干”之说。有文献报道我国跳水奥运冠军胡佳、吴敏霞等在 2004 年奥运会备战期间就服用过“复方补益汤”, 主要调节因运动性疲劳引起的“脾肾虚弱、肝血不足”和“心血不足、心肾不交”等症候群, 收到了极其满意的效果<sup>[2]</sup>。

本实验主要根据“复方补益”中药在抗运动疲劳作用研究的基础上,探讨它对运动训练大鼠血浆 Val、Leu、Ile 的作用,为进一步探索“复方补益”类药物缓解运动疲劳机理提供先期理论依据。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 大鼠运动性中枢疲劳模型的建立

将训练组大鼠以渐增方式进行长时间游泳训练,水温 28~30。大鼠在专门实验用动物游泳池中进行被迫无负重方式游泳,游泳池为长方形,体积为 90 cm × 120 cm × 100 cm,水深 80 cm。在建模时间上严格遵循运动训练科学中机体适应巩固性原则(表 1),在第 5、7、9 周都采取巩固适应性训练,使建模过程更加模拟实践训练,力求实验研究更加科学准确。

表 1 实验大鼠建模安排表

建模周数	每日建模次数	每周建模天数	每次建模时间/min	备注
1	1	5	60	
2	1	5	60~80	日增 5 min
3	1	5	85~105	日增 5 min
4	1	5	110~130	日增 5 min
5	1	5	130	
6	1	5	135~155	日增 5 min
7	1	5	155	
8	1	5	160~180	日增 5 min
9	1	5	180	
10	1	1	180	

### 1.2 实验动物及分组

采用健康雄性 Wistar 大鼠,5 只/笼饲养,体重 190~210 g。置于室温 20~22 清洁级动物实验室,自由饮水。在实验前 2 周开始适应性游泳训练及喂养,剔除不善于游泳者,并根据体重按层次进行随机分组。划分为安静对照组、训练对照组、安静中药组、训练中药组 4 个组别。

安静对照组(组 1, 20 只):从实验开始 1~9 周直到取材日不进行任何运动训练。安静中药组(组 2, 20 只):从实验开始 1~9 周直到取材日不进行任何运动训练。训练对照组(60 只):从实验开始 1~9 周进行上述建模游泳训练,直至第 10 周取材日随机进行分组,包括训练前安静状态组(组 3a)、训练后即刻状态组(组 3b)、训练结束后 3 h 恢复状态组(组 3c)。训练加中药组(60 只):从实验开始 1~9 周进行上述建模游泳训练,直至第 10 周取材日随机进行分组,包括训练前安静状态组(组 4a)、训练后即刻状态组(组 4b)、训练结束后 3 h 恢复状态组(组 4c)。

### 1.3 中药组方和灌药取材

组方原则:根据长期大运动量训练易导致机体阴阳平衡失调、气血耗损、脾肾虚亏,主要采用补血、健脾、活血的中药:黄芪 10 g、白术 10 g、当归 8 g、黄精 10 g、西洋参 10 g、山海螺 5 g、虫草 3 g、玉竹 10 g 等。中药提取:采用水提取液:取混合好的中药

50 g,纱布包好,加水 150 mL 于烧杯中浸泡 30~60 min,用猛火煮沸后,文火煎 30 min,取出过滤,冷却后定容至 100 mL(相当于 0.5 g/mL 生药)。

灌药:训练中药组每日运动前 10 min 取 2 mL 灌胃。训练对照组大鼠每日运动前 10 min 灌胃等体积蒸馏水。安静对照组、安静中药组大鼠则每日分别灌胃蒸馏水 2 mL 和 2 mL 水煎剂。

取材:取材日将各组大鼠断颈处死,股动脉取血,肝素抗凝,分离血浆, -20 冰箱冷藏待测。

### 1.4 指标检测

采用 MODEL500(美国原装,单泵标准套)液相色谱仪,流量范围:0.001~10.0 mL/min;精度:0.25%(0.1~10 mL/min);波长范围:190~800 nm;波长精度:±1 nm。荧光检测法检测血浆 Val、Leu、Ile 浓度。基本方法:取血浆加等量乙腈混匀,沉淀蛋白,高速离心 13 000 r/min 15 min,取上清液 200 μL,加入衍生剂 DNFB,于 70 水浴中衍生 15 min,加磷酸盐缓冲液(pH=7.0)至 1 mL,离心(12 000 r/min)10 min 取上清液进样 20 μL,试剂提供为国产色谱纯和美国 Sigma 色谱纯。

### 1.5 数理统计

所有数据采用 SPSS11.0 软件包进行处理,多组计量资料采用方差分析,方差不齐采用非参数统计、进行析因分析等方法进行检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 大鼠血浆 Val、Leu 和 Ile 浓度检测结果析因分析

表 2 结果显示, 训练和服用中药对 Leu 和 Ile 的浓度有显著影响, 证实了 Snitinskii 等<sup>[3]</sup>报道的动物在

长期运动、饥饿状态下脑与肌肉中亮氨酸等物质氧化量会大幅度增加。但长时期运动和服用中药对 Val 浓度没有发现显著影响, 推测这也许和服用的具体几味中药有关, 有待进一步深入研究。

表 2 施加不同因素对检测结果的析因分析

施加因素	Val		Leu		Ile	
	$F^{1)}$	$F_{pr.}^{2)}$	$F$	$F_{pr.}$	$F$	$F_{pr.}$
训练	0.679	0.768	9.654	0.028	11.776	0.050
中药	4.324	3.077	13.326	0.010	10.387	0.003
训练+中药	3.334	2.010	0.389	0.820	4.909	0.062

1) $F$  为方差齐性检验; 2) $F_{pr.}$ 是与施加因素前比较

### 2.2 不同状态下大鼠 Val、Leu、Ile 的测验结果

#### 1) 安静状态下 Val、Leu、Ile 变化。

表 3 结果显示, Val、Leu 和 Ile 的浓度在安静中

药组(组 2)中有增高的趋势, 特别是 Leu 和 Ile 的浓度变化明显, 与安静对照组(组 1)相比差异有非常显著性。说明施加“复方补益汤”起到了明显作用。

表 3 安静对照组与安静中药组 3 项指标 ( $\bar{x} \pm s$ ) 比较

组别	n/只	Val	Leu	Ile
组 1	20	276.967±23.245	151.589±26.225	167.278±25.237
组 2	20	278.234±20.278	315.890±21.565 <sup>1)</sup>	294.234±23.290 <sup>1)</sup>

1)与组 1 比较,  $P < 0.01$

#### 2) 训练状态下 Val、Leu、Ile 变化。

在训练对照组与训练中药组数据对比方面(表 4), 训练前安静状态两组(组 3a、组 4a)Val 无明显差异, 但 Leu 和 Ile 训练加中药组都明显高于训练对照组 ( $P < 0.01$ )。训练后即刻状态两组(组 3b、组 4b)Val、Leu 和 Ile 变化都比较明显 ( $P < 0.05$ ), 训练加中药组 Val、Leu 和 Ile 浓度都高于训练对照组, 证明训练虽然消耗了大量的 BCAA, 但中药施加后 BCAA 稀释水平下降;

在训练结束后 3 h 恢复状态两组(组 3c、组 4c)Val、Leu 和 Ile 变化也比较明显 ( $P < 0.05$ ), 证明中药施加后 BCAA 恢复水平可得到改善; 另外, 训练后即刻状态与训练结束后 3 h 恢复状态数据对比可以直接反映中药施加是否可以加快 BCAA 恢复水平。数据显示, 训练结束后 3 h 两组恢复水平差值中(训练结束后 3 h 减去训练后即刻)训练加中药组均高于训练对照组, 证明施加中药对于训练恢复有积极作用。

表 4 训练对照组与训练加中药组 3 项指标 ( $\bar{x} \pm s$ ) 比较

检测时间	组别	n/只	Val	Leu	Ile
训练前	组 3a	18	256.215±21.566	133.457±25.704	135.783±22.798
	组 4a	18	267.215±23.456	233.457±25.421 <sup>1)</sup>	199.783±27.345 <sup>1)</sup>
训练后即刻	组 3b	18	145.234±23.581	81.357±26.543	97.432±24.675
	组 4b	18	190.765±25.632 <sup>2)</sup>	139.785±27.890 <sup>2)</sup>	145.754±21.573 <sup>2)</sup>
训练后 3 h	组 3c	18	222.290±23.987	103.376±28.804	111.437±26.121
	组 4c	18	254.543±26.697 <sup>2)</sup>	227.776±24.098 <sup>2)</sup>	199.765±20.953 <sup>2)</sup>

与前一训练对照组比较, 1) $P < 0.01$ ; 2) $P < 0.05$

#### 3) 大鼠力竭状态与 Val、Leu、Ile 变化。

在实验 9、10 两周对于大鼠运动至力竭的时间进行了测定后发现, 训练对照组平均力竭时间为(6.3 ± 0.7) h, 训练加中药组平均力竭时间为(7.6 ± 0.5) h, 提

示中药施加能推迟力竭运动到来时间。在对力竭训练后 3 h Val、Leu、Ile 测定发现: Leu、Ile 指标训练加中药组恢复水平高于训练对照组 ( $P < 0.05$ ), Val 指标训练加中药组恢复水平与训练对照组差异不明显(见表 5)。

表 5 力竭运动 3 h 训练对照组与训练+中药组 3 项指标 ( $\bar{x} \pm s$ ) 比较

组别	n/只	Val	Leu	Ile
训练对照组	18	201.358±29.147	102.951±28.145	105.264±20.987
训练+中药组	18	226.312±21.146	170.954±22.369 <sup>1)</sup>	163.247±27.325 <sup>1)</sup>

1)与训练对照组比较,  $P < 0.01$

### 3 讨论

本研究结果显示,经游泳训练,大鼠血浆中 Val、Leu 和 Ile 的浓度下降,支持了以往研究证明的系统训练可引发血浆中的支链氨基酸水平下降,引发中枢疲劳的观点<sup>[4]</sup>。“复方补益汤”是中医常见的“补益、调理”方剂,它主要分为补气、补血、补阴、补阳 4 大类<sup>[5]</sup>。大负荷量运动能引起机体能量物质的大量消耗,特别是维持骨骼肌合成和中枢稳定的氨基酸类物质的消耗<sup>[6]</sup>,这些在祖国传统医学中都与中医的“虚证”相似,属于“血虚”或“阴虚”范畴。目前已有大量应用中药消除运动性疲劳的研究,但多从“补气助阳”入手,应用“养阴”方法抗运动性疲劳的研究报道还很少。而从中医整体观出发,阴虚内热也是导致运动性疲劳发生的重要机制。因此,本实验从中医阴阳互补的角度出发,贯彻脾为后天之本,气血生化之源,脾主四肢肌肉,与运动关系密切,结合现代医学研究结果表明,脾具有维持脏腑的正常机能与激发和增强元气的功能。因此,从理论上应辨证施治,推测选用以补血、补阴类为主的复方补益药对血浆支链氨基酸 Val、Leu 和 Ile 有积极作用。通过本实验研究和各项研究数据,证实了理论推测的真实性。实验中药方剂采用生血、补阴、健脾中药为主,兼养心安神的方法研制。方中用西洋参、山海螺扶正固本,配黄芪、白术、山药、麦冬益气健脾,酸枣仁养心安神,诸药互相配合补充和调节劳倦可能引起的气血耗散、脾胃虚亏。现代药理研究亦证实,西洋参、山海螺、黄芪等药除了含有多种营养成分外,对于脾气虚所致的骨骼肌能量代谢降低有良好的恢复作用,又可以提高血红蛋白浓度,改善机体机能状态。

实验结果显示,施加“复方补益汤”大鼠训练后即刻到 3 h 这段时间上来看,血浆中缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)浓度呈下降的趋势,其中 Leu 下降原因推测是由于亮氨酸是生酮氨基酸,它可以生成乙酰乙酸。运动负荷使采用氧化酮体供能比重增加,引起亮氨酸浓度下降。有文献报道运动负荷时体内肌酸和卟啉产生增加,这是导致其主要前体甘氨酸在血浆中浓度下降的原因之一<sup>[7]</sup>。运动负荷时血液中糖皮质激素浓度增加,而糖皮质激素能使 Leu 转氨酶活性增

高。因此,血浆中 Leu 运动负荷后下降。此外,负荷时体内大量合成儿茶酚胺等激素亦会影响到 Leu 浓度。至于 Val 和 Ile 的变化原因推测是由于和合成异亮氨酸的原料苏氨酸和合成缬氨酸的原料丙氨酸有直接关系。

在安静状态下施加“补益汤”大鼠亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)增加明显,运动后 3 h 这两项指标恢复也比对照组快,说明“补益汤”能明显改善大鼠血浆亮氨酸类物质水平,从而提高了大鼠的运动能力。但是,缬氨酸(Val)服药前后变化不明显,其原因有待进一步研究。在对于力竭训练持续时间与力竭后 3 h 指标水平测试后发现,中药施加组大鼠力竭时间普遍大于对照组,说明大鼠抗疲劳能力有所加强。力竭后 3 h Leu 和 Ile 浓度中药施加组明显高于对照组,说明大鼠在“补益汤”的作用下机体内环境稳定型增强,促进了疲劳的恢复能力。

### 参考文献:

- [1] 马玉兰,胡利民,史丽萍,等. “养肝柔筋方”抗运动性疲劳作用机制的实验研究——对大鼠运动能力和糖贮备的影响[J]. 天津中医, 2001, 18(5): 38-39.
- [2] 黎锦红. 中药膳食与辩证施治在运动疲劳中的应用[J]. 二沙学习报, 2007(3): 1-8.
- [3] 葛蔚,刘汉柱. 支链氨基酸的生物学作用[J]. 饲料工业, 2005(11): 13.
- [4] Blomstrand E. Changes in plasma concentrations of aromatic and branched chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue[J]. Acta Physiol Scand, 1988, 133: 115-121.
- [5] 杨树基. 中药饮剂对恢复疲劳及提高运动成绩的作用[J]. 上海体育学院学报, 1995, 19(1): 80-81.
- [6] 赵稳兴,王先远. 运动小鼠心肌和骨骼肌对支链氨基酸的摄取及其对蛋白质合成的作用[J]. 中国应用生理学杂志, 1999(2): 127-130.
- [7] 金宏. 肌酸提高运动能力的作用[J]. 氨基酸和生物资源, 2001, 23(4): 32-35.

[编辑: 郑植友]