

徐梦婷,朱钰晨,苏丹,等. 江香薷籽油对果蝇睡眠、嗅觉能力和抗氧化指标的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(9): 1182-1190.

XU M T, ZHU Y C, SU D, et al. Effects of *Mosla chinensis* seed oil on sleep, olfactory ability, and antioxidant indexes in *D. melanogaster* [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(9): 1182-1190.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.09.009

江香薷籽油对果蝇睡眠、嗅觉能力和抗氧化指标的影响

徐梦婷¹,朱钰晨¹,苏丹¹,宋永贵¹,张文凯¹,徐磊¹,
马秋婷¹,刘志勇^{1*},郭绍勇²

(1. 江西中医药大学实验动物科技中心,南昌 330004;2. 江西金贝农业发展有限公司,江西 新余 338000)

【摘要】 目的 探究江香薷籽油(*Mosla chinensis* seed oil, MCSO)对果蝇的生理行为和抗氧化指标的影响。方法 将1日龄野生型W¹¹¹⁸黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*, *D. melanogaster*)分为对照组、0.25%、0.5%、1%、2%和4%剂量组,并设雌雄分组。对照组喂食基础培养基,各剂量组分别喂食添加了0.25%、0.5%、1%、2%和4%浓度的MCSO培养基,采用攀爬实验探究最佳给药浓度和给药时间。再将果蝇分为空白组、模型组和给药组,模型组果蝇通过夜间重复光照刺激法剥夺果蝇睡眠,建立失眠模型。采用食欲实验、攀爬实验、应激实验、嗅觉记忆实验和检测果蝇睡眠-觉醒节律探究MCSO对果蝇生理行为的影响;采用酶联免疫吸附实验检测果蝇体内超氧化物歧化酶(super oxidase dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。结果 MCSO能够增强30日龄果蝇的运动能力($P < 0.01$);提高SOD、CAT活性($P < 0.01$)、降低体内MDA含量($P < 0.01$);改善衰老果蝇的嗅觉记忆能力。睡眠剥夺后雌性果蝇模型组夜晚睡眠时间减少($P < 0.05$),雄性果蝇模型组夜晚睡眠时间减少($P < 0.01$),喂食MCSO后,睡眠剥夺的雌性果蝇夜间睡眠时间延长($P < 0.05$),雄性果蝇夜间睡眠时间延长($P < 0.01$)。结论 MCSO对果蝇具有一定的体内抗氧化能力,能延长睡眠剥夺果蝇的夜间睡眠时间以及提高果蝇的嗅觉记忆力。

【关键词】 果蝇;江香薷籽;抗氧化;睡眠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 09-1182-09

Effects of *Mosla chinensis* seed oil on sleep, olfactory ability, and antioxidant indexes in *D. melanogaster*

XU Mengting¹, ZHU Yuchen¹, SU Dan¹, SONG Yonggui¹, ZHANG Wenkai¹, XU Lei¹,
MA Qiuting¹, LIU Zhiyong^{1*}, GUO Shaoyong²

(1. Laboratory Animal Science and Technology Center of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Jiangxi Jinbei Agricultural Development Co., Ltd, Xinyu 338000, China)

Corresponding author: LIU Zhiyong. E-mail: liuzhiyong0791@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of MCSO on physiological behavior and antioxidant index in *D. melanogaster*. **Methods** One-day-old wild type *D. melanogaster* was divided into control group, 0.25%, 0.5%, 1%, 2% and 4% dose groups, as well as male and female groups. The control group was exposed to the base medium, and each

【基金项目】 江西中医药大学科技创新团队发展计划(CXTD-22004)。

Funded by the Jiangxi University of Chinese Medicine Science and Technology Innovation Team Development Program (CXTD-22004).

【作者简介】 徐梦婷,女,在读硕士研究生,研究方向:中药药理与毒理。Email: 1789956108@qq.com

【通信作者】 刘志勇,男,教授,博士,研究方向:中药药理与毒理。Email: liuzhiyong0791@163.com

dose group was exposed to the MCSO medium added with 0.25%, 0.5%, 1%, 2% and 4% concentrations, respectively. The optimal dosage concentration and time of administration were investigated by climbing experiment. Then the flies were divided into control group, model group and MCSO group. The model group was established by depriving the flies of sleep through repeated nocturnal light stimulation. Period of drug treatment, appetite test, negative geotaxis ability test, stress test, olfactory memory test, and sleep-wake rhythm detection were used to explore the effects of MCSO on their physiological behavior. The activities of super oxidase dismutase (SOD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** MCSO enhanced the locomotory ability of 30-day-old *D. melanogaster* ($P < 0.01$), increased the activity of SOD and CAT ($P < 0.01$), and decreased the concentration of MDA ($P < 0.01$). Improve olfactory memory of senile fruit flies. After sleep deprivation, the night sleep time of female *Drosophila* model group was reduced ($P < 0.05$), and that of male *Drosophila* model group was reduced ($P < 0.01$). After feeding MCSO, the night sleep time of female *Drosophila* model group was extended ($P < 0.05$), and that of male *Drosophila* model group was extended ($P < 0.01$). **Conclusions** MCSO had a certain antioxidant effect, prolonging the sleep time and improving the olfactory memory of sleep-deprived *Drosophila*.

[Keywords] *Drosophila melanogaster*; *Mosla chinensis* seed; antioxidant activity; sleep

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

香薷为唇形科石芥苳属植物石香薷 (*Mosla chinensis* Maxim) 或江香薷 (*Moda chinensis*-*Jiangxiangru*), 前者习称“青香薷”, 为野生品; 后者习称“江香薷”, 为栽培品种^[1]。江香薷是江西的道地药材^[2]。江香薷籽油 (*Mosla chinensis* seed oil, MCSO) 系江香薷成熟后干燥的种子经一系列工艺精制而成的金黄色透明的油状液体。研究报道^[3], MCSO 中含有大量多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA), PUFA 参与了生物体生理调控的许多方面^[4], 其中 α -亚麻酸 (α -linolenic acid, ALA) 的含量为 50% ~ 60%, ALA 具有抗氧化^[5]、增强智力、提高记忆力^[6]、保护视力^[7]、改善睡眠^[8]、抗代谢综合征、抑制血栓性疾病、降低血脂、降血压、调节肠道菌群^[9]等功能, 以上研究提示 MCSO 可能具有很好的开发应用前景。

果蝇作为一种经典的模式生物, 发育周期短、繁殖能力强。果蝇与人类基因的同源性高达 80%, 且功能保守, 这些同源基因在人类和果蝇中执行着类似的生物学功能^[10], 使研究人员能够在短时间内通过果蝇模型进行人类相关疾病的研究。因此, 本实验利用果蝇这一模式生物, 研究 MCSO 对果蝇行为学以及抗氧化酶活性与 MDA 含量的影响, 探究其体内抗氧化、改善睡眠与学习记忆的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

1 日龄野生型 W¹¹¹⁸ 黑腹果蝇 (*Drosophila*

melanogaster, *D. melanogaster*), 培养在恒温箱内, 培养环境温度 25 ℃、湿度 65%, 光照周期 L/D = 12 h/12 h, 来自江西中医药大学实验动物科技中心。

1.1.2 主要试剂与仪器

MCSO (实验室自制); 考马斯亮蓝 G250 (上海麦克林生化科技有限公司, 批号 C14869772); 葡萄糖 (商丘亚翔生物科技有限公司, 批号 230302); 30% 过氧化氢 (西陇科学, 批号 2211082); 果蝇超氧化物歧化酶 (SOD) ELISA 试剂盒 (货号 HP-E22129)、果蝇过氧化氢酶 (CAT) ELISA 试剂盒 (货号 HP-E22186) 和果蝇丙二醛 (MDA) ELISA 试剂盒 (货号 HP-E22158) 均购自赫澎 (上海) 生物科技有限公司。

CP313 电子天平 (CP313, 奥豪斯仪器有限公司); Varioskan Flash 多功能读数仪 (Thermo Varioskan Flash, 美国赛默飞世尔公司); 电热恒温三用水箱 (HH-WB22-550-II, 上海跃进医疗器械有限公司); Beckman Allegra 冷冻离心机 (X-30R, 美国 beckman 公司); 果蝇活动监测系统 (DAM2, 南京伊科医疗器械有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 培养基制备

基础培养基: 取蔗糖 18.75 g、玉米粉 26.25 g、琼脂 1.875 g、酵母粉 10 g, 加蒸馏水 250 mL 放入锅中搅拌直至所有材料加热溶解, 至沸腾 (100 ℃) 后 10 min 加入丙酸 1.25 mL ($\geq 99\%$) 和尼铂金甲酯 3 mL (5%), 继续加热 3 min 至培养基浓稠状态, 立即分装在备用培养管中, 放凉至室温后, 放入 4 ℃ 冰箱保存。

MCSO 培养基:在配置基础培养基的过程中,加入按比例称取的 MCSO,在加热的过程中不断搅拌至均匀,其余步骤同基础培养基的制备,分别制得 0.25%、0.5%、1%、2%和 4%的 MCSO 培养基。

1.2.2 夜间重复光照刺激剥夺果蝇睡眠方法

参考许光辉等^[11]的方法,在果蝇培养箱中安置光照控制器,设定时间为 8:00 ~ 20:00 正常光照,晚 20:00 熄灯后,从 20:00 开始,每个整点恢复光照 10 min,其他时间为黑暗期,持续至次日上午 8:00,光照强度 650 Lx。

1.2.3 探究最佳给药浓度

参考宋明容等^[12]的方法稍作修改,选择 1 日龄 W^{1118} 型果蝇,分为对照组、MCSO 0.25%、0.5%、1%、2%和 4%剂量组,各 30 只。对照组以基础培养基连续喂养 7 d;MCSO 各剂量组 1 日龄果蝇以基础培养基喂养 2 d 后分别饲养在 0.25%、0.5%、1%、2%和 4%MCSO 培养基 5 d。

第 8 天将 6 组果蝇分别进行攀爬能力测试并计算果蝇攀附指数 (climb index, CI),并参考果蝇存活情况确定 MCSO 的最佳给药浓度。操作方法:将待测果蝇转移至测定管中,轻拍测定管使果蝇落在测定管底部,记录在 10 s 内爬升至 7.5 cm 的果蝇数,每组果蝇测 3 次,两次测量之间间隔 30 min,按公式计算果蝇攀附指数 (CI) ($CI = 10 \text{ s 内爬升至 } 7.5 \text{ cm 果蝇总数} / \text{果蝇总数} \times 100$);存活率 = 喂食 7 d 后存活果蝇数量 / 总样本量 $\times 100\%$,结果不计算实验中意外飞走的果蝇)。

1.2.4 MCSO 对果蝇摄食量的影响

参考文献^[13]方法,收集羽化后 1 d 的野生型 W^{1118} 果蝇共 360 只,随机分成 2 组,一组为空白组,另一组为给药组,每组 30 只,设 3 个平行管。空白组果蝇在基础培养基培养 20 d,给药组果蝇在基础培养基培养 10 d 后转入给药培养基培养 10 d。于 21 d 将果蝇转移至空管饥饿 1 h,通过毛细管喂食用 5% 葡萄糖溶液配置的 0.5% 亮蓝溶液,5 h 后 CO_2 麻醉,倒入研磨器中,移液枪移取 200 μL 超纯水,进行研磨,再加入 800 μL 超纯水,混匀后离心,取上清液,涡旋 30 s,取 200 μL 于 96 孔板,625 nm 处测定吸光度。

1.2.5 MCSO 对果蝇攀爬能力的影响

按“1.2.4”进行分组培育,选择 30 日龄的中年果蝇^[14]为实验对象。空白组果蝇在基础培养基培养 30 d,给药组果蝇在基础培养基培养 20 d 后转入

给药培养基培养 10 d,于第 31 天进行测试。

1.2.6 MCSO 对果蝇抗应激能力的影响

按“1.2.4”进行分组给药,每管 10 只,设置 3 个平行管。氧化应激损伤实验:于饲养 21 d 将果蝇转出空的培养管,饥饿 2 h,再向其中加入浸有双氧水的滤纸条,每隔 1 h 观察并记录果蝇存活情况。热应激实验:参考张婉迎等^[15]的方法并稍作修改,于饲养 21 d 将果蝇转入空管,并放置于 39 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内,每隔 1 h 记录果蝇存活情况直至全部死亡并绘制生存曲线。

1.2.7 MCSO 对失眠果蝇睡眠的影响

收集羽化 12 h 内的果蝇,分为空白组、模型组和给药组,每组 32 只,并设雌雄分组,空白组与模型组果蝇于基础培养基喂养 7 d,给药组果蝇于给药培养基喂养 7 d,于第 8 天晚上移入果蝇活动监测管中进行睡眠监测(于监测前适应 12 h)。睡眠检测方法:将实验所需的果蝇分别转移至细小玻璃管内(内径 5 mm、长 65 mm,一端装入果蝇培养基或给药培养基用黑色小帽封住,另一端用小棉球封住)每根小管内 1 只果蝇,并将细小玻璃管放置在果蝇红外活动检测器上,通过 DAMSystem 3.0 软件每 5 min 记录 1 次果蝇活动次数。若 5 min 内活动次数为 0,表示果蝇处于睡眠状态,记录为果蝇的睡眠时间,连续记录 24 h。

1.2.8 MCSO 对果蝇嗅觉记忆的影响

参考文献^[16]方法进行,每组 50 只,分为空白组与给药组,并设雌雄分组,选择 30 日龄的果蝇为实验对象。空白组果蝇在基础培养基培养 30 d,给药组果蝇在基础培养基培养 20 d 后转入给药培养基培养 10 d。于第 31 天开始实验,将果蝇饥饿 2 h 后分别放进 1000 mL 的烧杯中,再分别放进带有孔洞并且装有香蕉的 50 mL 有孔离心管 2 支,1 支离心管装有香蕉,另 1 支离心管在香蕉的上端隔有纱布,果蝇只可以闻到香蕉的味道但是不能吃到香蕉。然后观察果蝇进入可食离心管的数目。每隔 1 h 观察记录 1 次进入离心管的果蝇只数。

1.2.9 MCSO 对果蝇抗氧化酶活性的影响

收集羽化后 1 d 的野生型 W^{1118} 果蝇,每组 150 只,按“1.2.4”进行分组给药。于培养第 21 天麻醉称重,加入预冷的生理盐水制备 2% 的组织匀浆液。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,3000 r/min,离心 10 min,取上清液,按照 SOD、CAT、MDA 试剂盒说明书测定 SOD、CAT 的酶活性和 MDA 的含量。

1.3 统计学分析

数据用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 IBM SPSS 27.0 软件进行统计学分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。使用 Graph Pad Prism 9.5.1 绘图。

2 结果

2.1 最佳给药浓度的筛选

利用果蝇的负趋地性进行攀爬实验, 能够很好的反应其运动能力。不同剂量的 MCSO 对果蝇 CI 与存活率的影响见表 1, 0.5% 剂量组能够提高雌性 CI, 差异具有显著性, 0.5% 和 2% 剂量组均有提高雄性果蝇 CI 的趋势, 但在实验中发现, 2% 剂量组雄性

果蝇与 0.5% 浓度组雄性果蝇相比死亡率较高, 4% 剂量组的果蝇存活率仅为 83%。可能是由于高浓度组的培养基气味过浓, 影响了果蝇进食导致死亡。因此, 通过 5 d 的药物暴露选择 0.5% 剂量作为最佳给药浓度。

2.2 MCSO 对果蝇摄食量的影响

有研究报道表明, 适当的饮食限制可延缓机体衰老, 延长寿命, 增强机体的抗氧化能力^[17]。由图 1 可知, 雌、雄果蝇喂食 MCSO 后, 与对照组相比, 摄食量无显著性差异, 因此排除了饮食限制对抗衰老作用的影响。

表 1 不同浓度的 MCSO 对果蝇攀附指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of different concentrations of MCSO on the negative geotaxis ability of female *D. melanogaster* ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	n		CI		存活率/% Survivorship/%	
	雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male
0.25% 剂量组 0.25% dose group	27	25	77.77 ± 3.03	92.33 ± 1.89	90.00	83.33
0.5% 剂量组 0.5% dose group	28	29	94.05 ± 1.68 [#]	93.10 ± 0.00	96.55	96.67
1% 剂量组 1% dose group	27	25	71.60 ± 1.74	90.67 ± 1.89	90.00	83.30
2% 剂量组 2% dose group	29	25	82.76 ± 2.82	97.33 ± 1.89	96.67	86.20
4% 剂量组 4% dose group	20	25	65.00 ± 0.00	90.67 ± 1.89	66.67	83.33
对照组 Normal group	28	28	88.09 ± 4.45	90.47 ± 1.69	93.33	93.33

注: 与对照组相比, [#] $P < 0.05$ 。

Note. Compared with normal group, [#] $P < 0.05$.

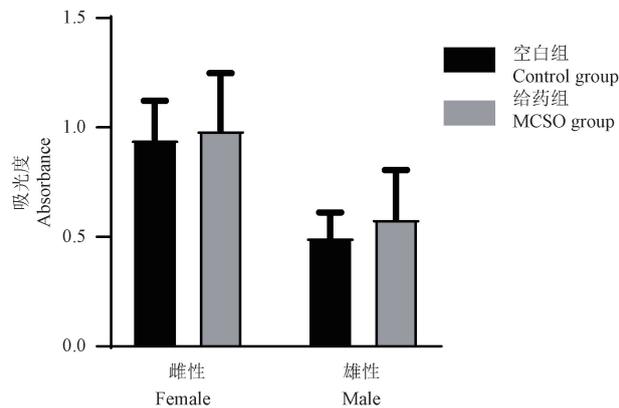


图 1 MCSO 对果蝇摄食量的影响

Figure 1 Effect of MCSO on food intake of *D. melanogaster*

2.3 MCSO 对果蝇攀爬能力的影响

随着果蝇年龄的增长, 其运动、嗅觉、学习能力

和昼夜节律性也随着年龄衰退^[18]。由表 2 可知, 在喂食 MCSO 后, 果蝇的攀爬能力得到了显著提高, 雌、雄果蝇的 CI 提高率分别为 38.77% 和 46.08%。表明 MCSO 能够改善果蝇衰老导致的运动能力下降。

表 2 MCSO 对 30 d 果蝇攀爬能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 2 Effect of MCSO on the negative geotaxis ability of 30 d *D. melanogaster* ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别 Groups	雌性 CI Female CI	雄性 CI Male CI
空白组 Control group	44.44 ± 1.92	49.44 ± 2.25
给药组 MCSO group	61.67 ± 2.21 ^{**}	72.22 ± 2.03 ^{**}

注: 与空白组相比, ^{**} $P < 0.01$ 。(下图/表同)

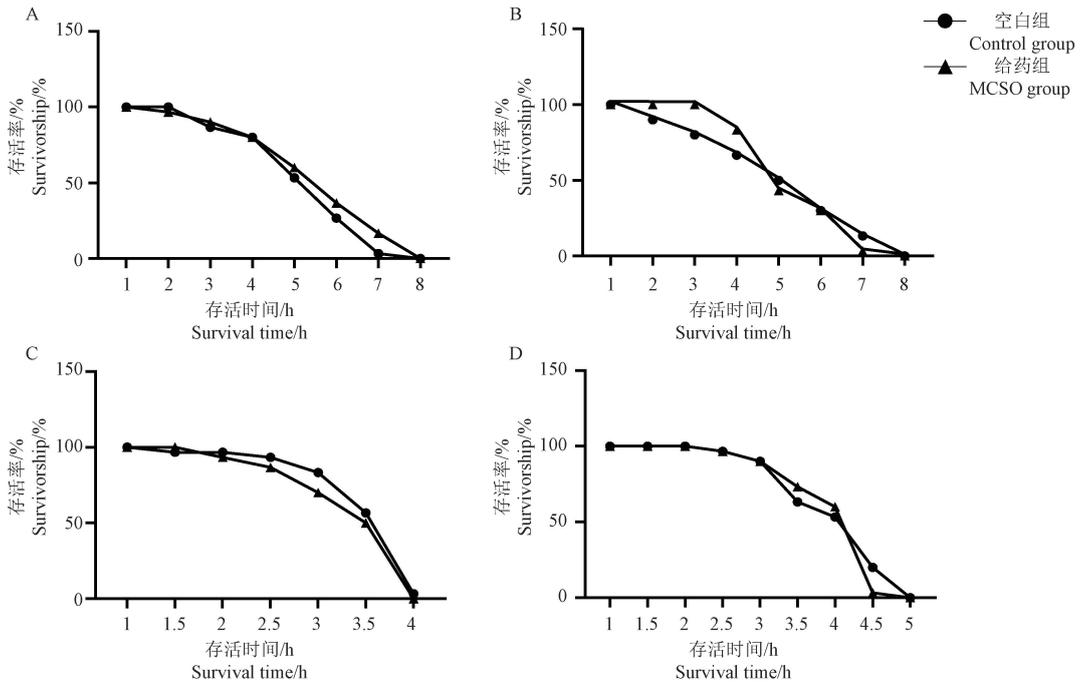
Note. Compared with control group, ^{**} $P < 0.01$. (The same in the following figures and tables)

2.4 MCSO 对果蝇氧化应激能力的影响

果蝇适应能力的丧失与年龄有关, 适应性内稳

态衰老理论也是解释衰老过程的另一个重要理论^[19]。因此本实验探究 MCSO 对果蝇抗应激能力的影响,结果如图 2 所示。在氧化应激损伤实验中,

与空白组相比,给药组雄性果蝇最高生存时间无变化,但其平均寿命延长 4.2%;在热刺激环境中,雌、雄果蝇的寿命无明显变化。



注:A;MCSO 对氧化损伤雌性果蝇寿命的影响;B;MCSO 对氧化损伤雄性果蝇寿命的影响;C;MCSO 对热刺激下雌性果蝇寿命的影响;D;MCSO 对热刺激下雄性果蝇寿命的影响。

图 2 MCSO 对急性氧化损伤和热刺激果蝇寿命的影响($n = 30$)

Note. A. Effect of MCSO on the life span of female *D. melanogaster* after oxidative damage. B. Effect of MCSO on the life span of male *D. melanogaster* after oxidative damage. C. Effect of MCSO on the lifespan of female *D. melanogaster* under heat stimulation. D. Effect of MCSO on longevity of male *D. melanogaster* under heat stimulation.

Figure 2 Effects of MCSO on survival time of *D. melanogaster* after acute oxidative damage and heat stimulation($n = 30$)

2.5 MCSO 对失眠果蝇睡眠的影响

由表 3 分析可知,雌雄果蝇模型组夜晚睡眠时间均低于空白组,其差异具有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$),而白天睡眠时间无显著性差异,表明失眠造模成功。对失眠模型果蝇喂食 MCSO 后,给药组与模型组比较,其夜晚睡眠时间延长,差异具有显著性($P < 0.05$),而与空白组睡眠时间无显著性差异,表明 MCSO 能够改善雌雄果蝇的失眠情况,具有正向干预作用。

图 3 中黑色线条表示果蝇活动,白色表示睡眠。黑色线条越高表明单位时间内的活动次数越多,线条越密集,表示单位时间内果蝇活动越频繁。通过图 3 可知,图中红框内模型组雌、雄果蝇的夜间活动量显著高于空白组,MCSO 给药后,果蝇睡眠情况又接近于空白组。结合表 3 睡眠时间可得,MCSO 可能是通过减少果蝇夜间活动次数,延长睡眠时长来

改善睡眠剥夺对生物节律的影响。

白天 12 h 给药组果蝇黑色线条相对空白组密集,说明喂养 MCSO 后果蝇的活动相较频繁,白天活动次数升高,结合表 3 白天睡眠时间内雄性给药组果蝇睡眠时间低于空白组,差异具有显著性($P < 0.01$)。可知 MCSO 能够增强雄性果蝇白天活动次数。

2.6 江香薷对果蝇嗅觉记忆的影响

结果显示,给药组雌、雄果蝇 1 ~ 9 h 进入无障碍离心管的数量均高于空白对照组,表明 MCSO 可改善果蝇的嗅觉记忆能力(图 4)。

2.7 MCSO 对果蝇抗氧化酶活性的影响

2.7.1 MCSO 对果蝇 SOD 活性的影响

自由基致衰老学说被广泛认为是衰老的主要机制,环境和内部代谢产生的自由基和相关氧化剂会对细胞结构和机体功能产生影响,机体自身能够

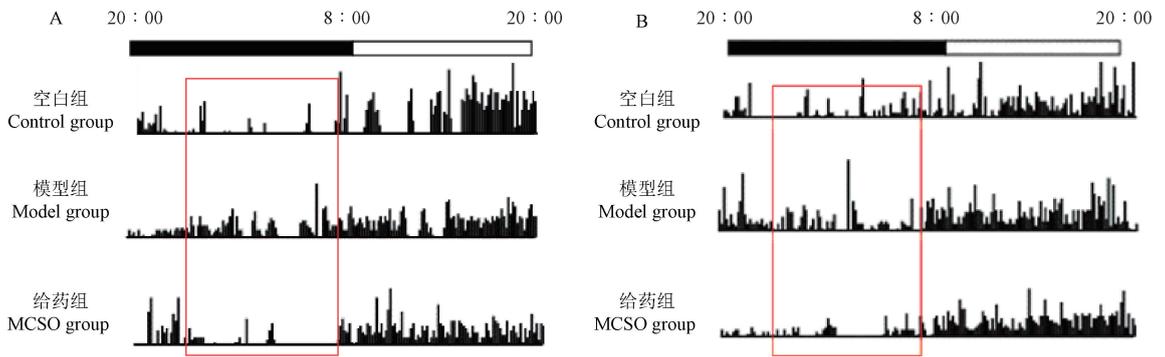
表 3 MCSO 对 7 日龄果蝇睡眠时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 32$)

Table 3 Effect of MCSO on sleep time of 7-day-old *D. melanogaster* ($\bar{x} \pm s, n = 32$)

组别 Groups		平均时间/min Average time/min		
		总睡眠时间 Total sleep time	白天睡眠时间 Daytime sleep time	夜晚睡眠时间 Night sleep time
空白组 Control group	雌 Female	790.16 ± 103.98	267.83 ± 80.52	522.33 ± 51.11
	雄 Male	1072.9 ± 215.53	448.38 ± 133.79	624.54 ± 103.03
模型组 Model group	雌 Female	609.33 ± 152.60	204.17 ± 75.17	405.16 ± 112.57 [*]
	雄 Male	946.67 ± 251.91	457.16 ± 122.47	488.86 ± 155.59 ^{**}
给药组 MCSO group	雌 Female	778.60 ± 185.91	205.10 ± 98.11	573.50 ± 111.61 ^{aa}
	雄 Male	898.78 ± 158.91	325.71 ± 107.97 ^{**aa}	573.05 ± 64.57 ^a

注:与空白组相比, ^{*} $P < 0.05$;与模型组相比, ^a $P < 0.05$, ^{aa} $P < 0.01$ 。

Note. Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$. Compared with model group, ^a $P < 0.05$, ^{aa} $P < 0.01$.

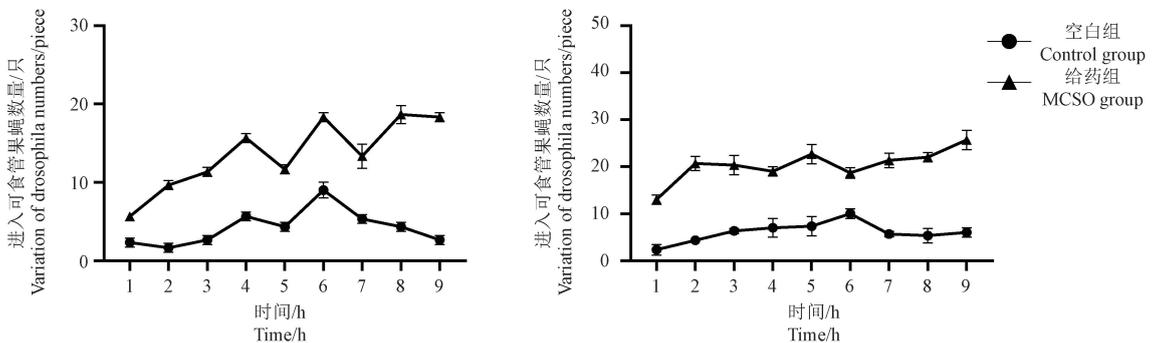


注:A:雌性果蝇睡眠节律图;B:雄性果蝇睡眠节律图。

图 3 MCSO 对果蝇睡眠-觉醒节律的影响

Note. A. Sleep rhythm of female *D. melanogaster*. B. Sleep rhythm of male *D. melanogaster*.

Figure 3 Effect of MCSO on sleep-wake activity of *D. melanogaster*



注:A:雌性果蝇进入无障碍离心管数量变化曲线图;B:雄性果蝇进入无障碍离心管数量变化曲线图。

图 4 果蝇进入无障碍离心管数量变化

Note. A. Variation curve of the number of female *D. melanogaster* entering the barrier-free centrifuge tube. B. Variation of the number of male *D. melanogaster* entering the barrier-free centrifuge tube.

Figure 4 *D. melanogaster* numbers entering the centrifuge tube and eating food

通过抗氧化防御系统平衡自由基的破坏作用。SOD 是现代研究中最广泛的用于清除体内自由基的抗氧化酶^[20]。由图 5 可知雌、雄给药组果蝇 SOD 活性均高于空白组,差异具有显著性($P < 0.01$),表明 MCSO 能够增强果蝇体内 SOD 活性。

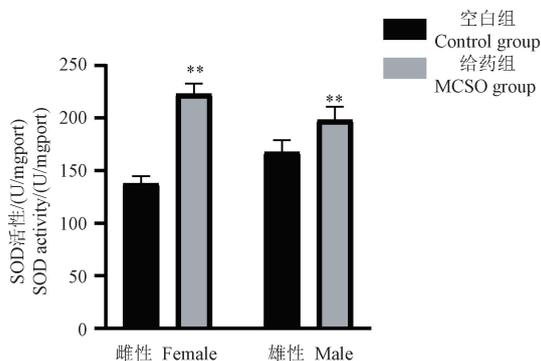


图 5 MCSO 对果蝇 SOD 活性的影响

Figure 5 Effect of MCSO on SOD activity in *D. melanogaster*

2.7.2 MCSO 对果蝇 CAT 活性的影响

CAT 是另一种抗氧化酶,由图 6 可知,给药组雌、雄果蝇 CAT 活性均高于空白组,具有显著性差异($P < 0.01$),说明 MCSO 能够增强果蝇体内 CAT 活性。

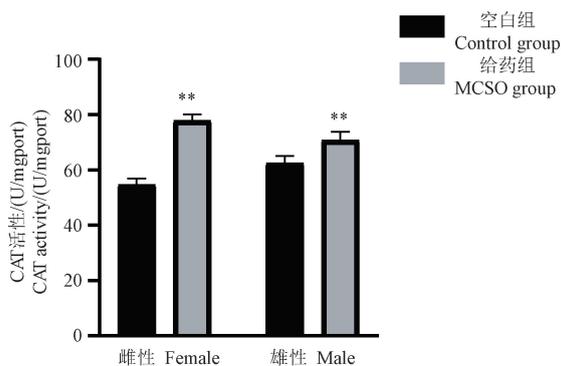


图 6 MCSO 对果蝇 CAT 活性的影响

Figure 6 Effect of MCSO on CAT activity in *D. melanogaster*

2.7.3 MCSO 对果蝇 MDA 含量的影响

MDA 是脂质过氧化的主要产物之一,其水平随着年龄的增加而升高,可反映自由基对机体的损伤程度^[21]。由图 7 可知,对果蝇喂食 MCSO 后,雌、雄果蝇体内 MDA 含量均下降,具有极显著性差异($P < 0.01$)。结合“2.7.1”与“2.7.2”结果,MCSO 对果蝇的抗氧化能力具有正向调控作用。

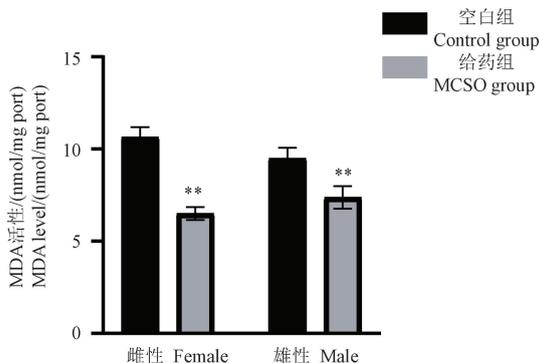


图 7 MCSO 对果蝇体内 MDA 含量的影响

Figure 7 Effect of MCSO on MDA in *D. melanogaster*

3 讨论

课题组前期对 MCSO 进行成分分析时发现,其脂肪酸中 α -亚麻酸含量高达 67.34%,同时 DPPH 自由基清除率达到 58.168%,总抗氧化能力为 0.5 mmol/g,证明 MCSO 具有一定的体外抗氧化能力^[3]。国外研究报道,亚麻酸对秀丽隐杆线虫具有氧化应激损伤保护作用并能延长其寿命^[22]。基于以上报道,本研究通过对果蝇进行食欲实验、攀爬实验、抗应激实验并测定体内抗氧化酶活性和 MDA 含量来评价 MCSO 的体内抗氧化作用,结果得到, MCSO 能够增强 30 日龄果蝇的运动能力,提高抗氧化酶活性、降低体内 MDA 含量,且不依赖饮食限制途径。

本实验通过检测果蝇 24 h 活动情况,以平均睡眠时间和睡眠-觉醒节律为观察指标,探究 MCSO 对失眠模型果蝇的睡眠改善作用。发现 MCSO 可以延长果蝇夜间睡眠时间,正向调控失眠果蝇睡眠-觉醒节律。有临床研究表明,膳食 n-3 多不饱和脂肪酸摄入量与睡眠量之间存在正相关, MCSO 可能是通过补充多不饱和脂肪酸这一途径来调节果蝇睡眠^[23]。另有研究表明,睡眠和氧化应激之间存在双向关系,推测 MCSO 可能通过改善果蝇的抗氧化能力来实现睡眠调节^[24]。

PUFA 能够提高认知障碍患者的学习记忆能力主要通过减轻炎症反应、增强脑组织抗氧化能力、增强神经元的突触活性这 3 个途径^[25]。研究表明含有 PUFA 的香薷籽油具有改善子代小鼠学习记忆的功能^[26]。果蝇寿命短暂,平均只有 40 d,具有与人类极为相似的学习记忆构造机理^[27],在这方面的缺陷可以通过嗅觉调节过程得到观察^[28]。研究表明衰老会导致果蝇中期记忆依赖的合成蛋白受损

从而导致记忆下降。在巴普洛夫嗅觉记忆测试中, 30 日龄果蝇中避开惩罚性气味的果蝇数量显著性低于 10 日龄果蝇^[29]。本实验利用这一特点通过对 30 日龄果蝇的嗅觉记忆实验, 初步考察了 MCSO 是否具有潜在的改善学习记忆的作用, 结果表明 MCSO 能够显著提高进入无障碍离心管的果蝇数量, 认为其具有一定的改善果蝇嗅觉记忆的作用。

以上研究结果为进一步开发利用江香薷籽的药用价值提供了基础, 但其作用机制还有待进一步探究。

参 考 文 献 (References)

- [1] 单锋, 张水祥, 张水寒, 等. 经典名方中香薷的本草考证 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(12): 1-12.
SHAN F, ZHANG W X, ZHANG S H, et al. Herbal textual research on moslae herba in famous classical formulas [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(12): 1-12.
- [2] 梁小敏, 龚福保, 周万祥, 等. 不同播期和收获期对江香薷农艺性状及品质的影响 [J]. 农业科技通讯, 2022, 4: 83-87.
LIANG X M, GONG F B, ZHOU W X, et al. Effects of different sowing dates and harvest dates on agronomic traits and quality of *Elsholtzia bodinieri* [J]. Bull Agric Sci Technol, 2022, 4: 83-87.
- [3] 罗琪, 邓泽元, 洪滔, 等. 江香薷籽挥发油成分和脂肪酸分析及其抗氧化活性研究 [J]. 江西科学, 2022, 40(4): 683-689.
LUO Q, DENG Z Y, HONG T, et al. Chemical composition analysis of volatile oils and fatty acids from *Mosla chinensis* seeds and antioxidant activity [J]. Jiangxi Sci, 2022, 40(4): 683-689.
- [4] 吴洪号, 张慧, 贾佳, 等. 功能性多不饱和脂肪酸的生理功能及应用研究进展 [J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(8): 134-140.
WU H H, ZHANG H, JIA J, et al. Research progress of physiologic function and application of functional polyunsaturated fatty acids [J]. Chin Food Add, 2021, 32(8): 134-140.
- [5] 李晚钰, 郑明明, 郭艳, 等. α -亚麻酸植物甾醇酯抑制氧化应激改善非酒精性脂肪性肝病 [J]. 营养学报, 2020, 42(6): 575-580.
LI X Y, ZHENG M M, GUO Y, et al. Protection of plant sterol ester of α -linolenic acid from non-alcoholic fatty liver disease by inhibiting oxidative stress [J]. Acta Nutr Sin, 2020, 42(6): 575-580.
- [6] 陈亮, 王丽梅, 郭艳芬, 等. 核桃油、紫苏油、 α -亚麻酸、亚油酸对大鼠学习记忆的影响 [J]. 中国油脂, 2011, 36(10): 33-37.
CHENG L, WANG L M, GUO Y F, et al. Effect of walnut oil, perilla oil, α -linolenic acid and linoleic acid supplementation on rats spatial learning and memory ability [J]. Chin Oils Fats, 2011, 36(10): 33-37.
- [7] SINCLAIR A J, GUO X F, ABEDIN L. Dietary alpha-linolenic acid supports high retinal DHA levels [J]. Nutrients, 2022, 14(2): 301.
- [8] LUO J, GE H, SUN J, et al. Associations of dietary ω -3, ω -6 fatty acids consumption with sleep disorders and sleep duration among adults [J]. Nutrients, 2021, 13(5): 1475.
- [9] YUAN Q, XIE F, HUANG W, et al. The review of alpha-linolenic acid; Sources, metabolism, and pharmacology [J]. Phytother Res, 2022, 36(1): 164-188.
- [10] 黄莉莉, 冯湘雯, 卞宏生, 等. 果蝇作为睡眠模型的研究进展 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2014, 23(3): 166-169.
HUANG L L, FENG X W, BIAN H S, et al. Research progress of *Drosophila* as a sleep model [J]. Chin J Drug Depend, 2014, 23(3): 166-169.
- [11] 许光辉, 李廷利. 夜间重复光照刺激建立果蝇睡眠剥夺模型的研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(8): 2044-2045.
XU G H, LI T L. Establishment of a model of sleep deprivation induced by repeated light stimulation at night in *Drosophila* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2012, 23(8): 2044-2045.
- [12] 宋明容, 任佳慧, 刘莹, 等. 远志皂苷对转 Tau 基因果蝇 AD 模型行为学及 dTOR 基因表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(12): 2837-2839.
SONG M R, REN J H, LIU Y, et al. Effects of *Polygala tenuifolia* saponins on behavior and dTOR gene expression in AD model of Tau transgenic *Drosophila* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2022, 33(12): 2837-2839.
- [13] 朱想, 沈洁, 吕佳乐, 等. 夏枯草水提物对黑腹果蝇寿命的影响 [J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(6): 54-59.
ZHU X, SHEN J, LYU J L, et al. Effect of *Prunella vulgaris* extracts on the lifespan of *Drosophila melanogaster* [J]. Chin Food Addit, 2019, 30(6): 54-59.
- [14] ZHOU Y Z, YAN M L, GAO L, et al. Metabonomics approach to assessing the metabolism variation and gender gap of *Drosophila melanogaster* in aging process [J]. Exp Gerontol, 2017, 98: 110-119.
- [15] 张婉迎, 赵文学, 尹翌秋, 等. 人参水提物对果蝇抗衰老的作用机制 [J]. 吉林农业大学学报, 2018, 40(5): 557-562.
ZHANG W Y, ZHAO W X, YIN Y Q, et al. Mechanism of Anti-aging activity of water extract of ginseng in *Drosophila melanogaster* [J]. J Jilin Agric Univ, 2018, 40(5): 557-562.
- [16] 雷莉, 范桂香, 宋土生, 等. 温度对果蝇学习记忆行为的影响 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2006, 27(4): 341-343.
LEI L, FAN G X, SONG T S, et al. Effects of temperature on behaviour of learning and memory of *Drosophila melanogaster* [J]. J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci), 2006, 27(4): 341-343.
- [17] 张佳丽, 叶怡翔, 魏剑晖, 等. 饮食限制对 D-半乳糖诱导的雌性老龄大鼠皮肤的抗衰老作用的研究 [J]. 营养学报, 2018, 40(5): 509-511.
ZHANG J L, YE Y X, WEI J H, et al. Anti-aging effect of

- dietary restriction on skin of female aged rats induced by D-galactose [J]. Acta Nutr Sin, 2018, 40(5): 509-511.
- [18] GROTEWIEL M S, MARTIN I, BHANDARI P, et al. Functional senescence in *Drosophila melanogaster* [J]. Ageing Res Rev, 2005, 4(3): 372-397.
- [19] 杨善岚, 吴磊, 涂嘉欣, 等. 自由基致衰老的研究进展 [J]. 中华疾病控制杂志, 2022, 26(5): 589-594.
- YANG S L, WU L, TU J X, et al. Research progress of free radical induced aging [J]. Chin J Dis Contr Prev, 2022, 26(5): 589-594.
- [20] TANG R, CHEN X, DANG T, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides extend the mean lifespan of *Drosophila melanogaster* [J]. Food Funct, 2019, 10(7): 4231-4241.
- [21] 斯琴, 刘铜华. 蒙药手掌参-37 味丸对亚急性衰老模型小鼠血清 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量的影响 [J]. 中药导报, 2014, 20(4): 10-11, 15.
- SI Q, LIU T H. The influence of Shouzhangshen-37 pill of Mongolian medicine on serum SOD, CAT, GSH-px activity and MDA content in sub-acute aging model mice [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2014, 20(4): 10-11, 15.
- [22] MORGESE M G, SCHIAVONE S, BOVE M, et al. N-3 PUFA prevent oxidative stress in a rat model of beta-amyloid-induced toxicity [J]. Pharmaceuticals, 2021, 14(4): 339.
- [23] DECOEUR F, BENMAMAR-BADEL A, LEYROLLE Q, et al. Dietary N-3 PUFA deficiency affects sleep-wake activity in basal condition and in response to an inflammatory challenge in mice [J]. Brain Behav Immun, 2020, 85: 162-169.
- [24] KO K, AHN Y, CHEON G Y, et al. Effects of *Dendropanax moribiferus* leaf extract on sleep parameters in invertebrate and vertebrate models [J]. Antioxidants, 2023, 12(10): 1890.
- [25] 刘佳欣, 付朝旭, 许妍妮. ω -3 和 ω -6 多不饱和脂肪酸改善轻度认知障碍机制的研究进展 [J]. 中国油脂, 2022, 47(4): 81-86.
- LIU J X, FU C X, XU Y J. Progress on the mechanism of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids in improving mild cognitive impairment [J]. Chin Oils Fats, 2022, 47(4): 81-86.
- [26] 张丽娟, 尚建华, 殷建忠, 等. 云南野生香薷油对子代小鼠学习记忆功能的影响 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(7): 733-736, 732.
- ZHANG L J, SHANG J H, YIN J Z, et al. Effect of Yunnan wild *Elsholtzia* oil on learning and memory in offspring mice [J]. Mod Food Sci Technol, 2012, 28(7): 733-736, 732.
- [27] 刘志勇. 果蝇作为学习记忆实验动物模型的研究回顾 [J]. 中国比较医学杂志, 2005, 15(2): 108-111.
- LIU Z Y. Review on learning and memory model of *Drosophila* [J]. Chin J Comp Med, 2005, 15(2): 108-111.
- [28] TAMURA T, CHIANG A S, ITO N, et al. Aging specifically impairs amnesiac-dependent memory in *Drosophila* [J]. Neuron, 2003, 40(5): 1003-1011.
- [29] TONOKI A, DAVIS R L. Aging impairs protein-synthesis-dependent long-term memory in *Drosophila* [J]. J Neurosci, 2015, 35(3): 1173-1180.

[收稿日期] 2023-11-03