

元宝枫籽油纳米结构脂质载体对秀丽线虫衰老的改善作用

严艳芳^{1,2}, 李小洪^{1,2}, 刘莎^{1,2}, 冉娴婷², 颜令², 曹家辅², 杨娟^{1,2*}

(1. 贵州医科大学中药功效成分发掘与利用全国重点实验室, 贵州贵阳 550014)

(2. 贵州省天然产物研究中心, 贵州贵阳 550014)

摘要: 该文对熔融乳化-超声法制备得到的元宝枫籽油纳米结构脂质载体 (ASO-NLC) 性状进行表征, 并考察其对秀丽隐杆线虫寿命、生育能力、运动能力、抗氧化能力、热/氧化应激及细胞凋亡的影响。结果表明, ASO-NLC 粒径为 244.40 nm, PDI 为 0.17, zeta 电位为 -30.07 mV, 离心稳定性好, 是一种稳定性良好的口服制剂。与空白组比较, ASO-NLC 可使线虫最长寿命延长 50.21% 以上, 平均寿命延长 12.00%~36.00%, 而且寿命的延长不会导致线虫生殖能力下降; 线虫培养 10 d 后, ASO-NLC 能显著提高线虫的蠕动力, 到 15 d 时, 作用更为明显。ASO-NLC 可使谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 等抗氧化酶活性分别提高 21.58%~48.81%、22.42%~58.58% 和 16.11%~75.88%; 丙二醛 (MDA) 含量降低 6.81%~34.89%。急性氧化应激下, ASO-NLC 组线虫最长存活时间延长了 1.50 倍。吖啶橙染色结果显示, ASO-NLC 组相对荧光强度比空白组减弱了 13.71%~17.00%。综上所述, ASO-NLC 可通过延长线虫寿命, 提升其运动能力, 提高线虫抗应激损伤的能力、体内抗氧化酶活性及减少细胞凋亡来延缓线虫衰老。该研究为元宝枫籽油功能性多元化产品开发提供了理论基础。

关键词: 元宝枫籽油; 纳米结构脂质载体; 性状表征; 秀丽隐杆线虫; 抗衰老

文章编号: 1673-9078(2025)09-39-46

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.0828

Antiaging Effects of *Acer truncatum* Seed Oil-based Nanostructured Lipid Carriers on *Caenorhabditis elegans*

YAN Yanfang^{1,2}, LI Xiaohong^{1,2}, LIU Sha^{1,2}, RAN Xianting², YAN Ling², CAO Jiafu², YANG Juan^{1,2*}

(1. State Key Laboratory of Discovery and Utilization of Functional Components in Traditional Chinese Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China)

(2. Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550014, China)

Abstract: The properties of *Acer truncatum* seed oil-based nanostructured lipid carriers (ASO-NLC) prepared using the melt emulsification-ultrasonication method were characterized, and their effects on the longevity, fertility, exercise capacity, antioxidant capacity, heat/oxidative stress, and apoptosis of *Caenorhabditis elegans* were evaluated. ASO-NLC exhibited a

引文格式:

严艳芳, 李小洪, 刘莎, 等. 元宝枫籽油纳米结构脂质载体对秀丽线虫衰老的改善作用[J]. 现代食品科技, 2025, 41(9): 39-46.

YAN Yanfang, LI Xiaohong, LIU Sha, et al. Antiaging effects of *Acer truncatum* seed oil-based nanostructured lipid carriers on *Caenorhabditis elegans* [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(9): 39-46.

收稿日期: 2024-06-12; 修回日期: 2024-08-01; 接受日期: 2024-08-08

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑[2021]一般 127); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2023]一般 242)

作者简介: 严艳芳 (1989-), 女, 硕士, 研究方向: 功能天然产物与产品开发, E-mail: yanfangyan1926@sina.com

通讯作者: 杨娟 (1971-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 药食用资源研究与开发, E-mail: yangxz2002@126.com

particle size of 244.40 nm, a polydispersity index of 0.17, a zeta potential of -30.07 mV, and good centrifugal stability, that it is a stable oral formulation. Comparisons between the treatment groups and the control group (NC) revealed that ASO-NLC could extend the longest lifespan by more than 50.21% and the average lifespan by 12%~36%. Moreover, the extension of life span did not reduce the fertility of *C. elegans*. ASO-NLC also significantly improved the motility of *C. elegans* after 10 days of culture, with more obvious enhancement observed on day 15. Additionally, ASO-NLC increased the activities of glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase by 21.58%~48.81%, 22.42%~58.58%, and 16.11%~75.88%, respectively, while reducing the malondialdehyde content by 6.81%~34.89%. Under acute oxidative stress, the longest survival time of *C. elegans* in the ASO-NLC group was 1.50-fold longer than that in the NC group. The acridine orange staining results demonstrated that the relative fluorescence intensity of the ASO-NLC group was 13.71%~17.00%, which was significantly lower than that of the NC group ($P<0.01$). In conclusion, ASO-NLC can increase the lifespan, exercise capacity, and stress resistance of *C. elegans*; enhance the in vivo activities of antioxidant enzymes; and reduce apoptosis, enabling ASO-NLC to slow the aging of *C. elegans*. This study provides a theoretical basis for the development of functional products of *A. truncatum* seed oil.

Key words: *Acer truncatum* seed oil; nanostructured lipid carrier; characterization; *Caenorhabditis elegans*; anti-aging

元宝枫籽油 (ASO) 是从元宝枫 (*Acer truncatum* Bunge) 种仁中提取的一种功能性油脂, 含有丰富的不饱和脂肪酸。更令人感兴趣的是, 它是少数含有神经酸的食用植物油。神经酸 (NA) 又称为鲨鱼酸, 化学名为顺-15-二十四碳单烯酸, 通常存在于哺乳动物的神经组织中, 是大脑神经纤维和神经细胞的核心天然成分, 也是迄今为止发现的能促进受损神经组织修复、再生的特效物质^[1]。元宝枫籽油中神经酸含量可达 5.2%~6.2%^[2,3]。ASO 具有抗菌、调节肠道菌群^[4]、改善认知功能^[5,6]、改善机体炎症水平^[7]等作用。自 2011 年 3 月被正式列为国家新资源食品后, ASO 开发应用的领域得到进一步拓宽。但由于 ASO 中高不饱和度的脂肪酸含量高, 容易氧化, 极易失去其功能活性及营养价值, 这种不稳定性又限制了其应用范围。

纳米结构脂质载体 (NLC) 是一类脂溶性营养物质的递送载体^[8]。它采用混合脂质作为载体, 将常温下为液态的脂质加入到固态脂质中, 并在室温和体温下维持载体的固态结构^[9]。NLC 在食品领域中的载体粒径通常小于 500 nm^[10]。NLC 可为其包埋的活性营养物质提供稳定的储藏条件, 减少活性营养物质的氧化^[11]; 同时可以掩盖活性营养物质本身的不良气味和味道, 减少活性营养物质的流失, 提高服用人群的使用顺应性。除此之外, NLC 还具有靶向性和长效性^[12]。NLC 因其高生物利用度和高生物相容性且毒副作用较小的优势, 在食品和医药领域得到越来越广泛的应用^[13,14]。相对于其他形式的载体或包埋形式存在的局限性, 如纳米混悬

液适用于大剂量的药物, 而在元宝枫籽油中不饱和脂肪酸含量较高且食用的神经酸含量不宜一次大量使用; 聚合物胶束具有一定的不稳定性, 水溶性低的元宝枫籽油制备成胶束在胃肠道不溶导致其生物利用度有限; 微乳易受“奥斯特瓦尔德熟化”的影响^[15]; 纳米胶囊具有良好的稳定性但制备工艺复杂等等, 将元宝枫籽油制备成纳米结构脂质载体可以克服上述几种新型药物递送系统的缺点。

随着现代医学的发展, 人类寿命得以大幅延长, 老龄化趋势日渐加重。高龄是与阿尔茨海默病、糖尿病、高血压等慢性疾病发展相关的最大危险因素之一^[16]。因此, 开发抗衰老的产品来保障老年人群的生存和生活品质尤为重要。秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 因其寿命只有 2~3 周, 生殖周期只有 3 d, 繁殖能力强, 适合做模式生物, 已在抗衰老生物模型中得到广泛应用^[17]。Zhang 等^[18]研究发现, 元宝枫叶总黄酮对秀丽隐杆线虫具有抗衰老能力。曹元洛^[19]从神经修复的角度对 ASO 对线虫运动的影响, 及神经酸对线虫寿命、运动行为、脂质积累方面的影响进行了探讨。但将 ASO 制成纳米结构脂质载体并研究其抗衰老活性还未见报道。因此, 本实验以秀丽隐杆线虫为模型, 探究元宝枫籽油纳米结构脂质载体抗衰老的能力, 为元宝枫籽油多元化功能产品的研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

N2 野生型秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*, the Bristol

Strain N2), 福建上源生物科学技术有限公司; 元宝枫籽油, 贵州玄德生物科技有限公司; 可可油, 上海易恩化学技术有限公司; 棕榈酸棕榈酯, 上海易恩化学技术有限公司; 泊洛沙姆 188, 山东优索化工科技有限公司; NGM 培养基 (20230910), 瑞楚生物科技江苏有限公司; 蛋白胨 (20230630)、酵母浸粉 (20230718), 北京奥博星生物技术有限责任公司; 丙二醛 (MDA) 试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒、过氧化氢酶 (CAT) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒, 南京城建生物工程研究所。

SCIENITZ-ΠD 超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 3000puls 高压微射流均质机, 贵安新区瑞诚生物工程有限公司; NanoBrook 90plus PALS Zeta 电位及粒度分析仪, 布鲁克海文仪器公司; MD50 体式显微镜, 广州市明美光电技术有限公司; LDZX-50L 立式高压蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂; SR205DU 十万分之一天平, 梅特勒托利多集团; NH-40BS 电热恒温培养箱, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; ZWY-2101 立式双层全温震荡器, 上海智诚分析仪器制造有限公司; Var ioskan LUX 酶标仪, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; LEICA DMI8 倒置荧光显微镜, 德国徕卡公司。

1.2 方法

1.2.1 元宝枫籽油纳米结构脂质载体 (ASO-NLC) 的制备

以元宝枫籽油 (ASO) 2.50 g、可可油 2.00 g、棕榈酸棕榈酯 0.50 g 为油相; 泊洛沙姆 188 2.00 g、纯化水 50 mL 为水相; 将油相和水相分别在 50 °C 水浴条件下共融后, 将水相分散到油相中, 混合溶液在磁力搅拌器下搅拌 2 min, 然后采用超声细胞粉碎机在超声功率为 300 W 条件下破碎 12 min (开 5 s, 关 5 s) 得到初乳, 初乳再于高压微射流均质机中 (750 bar) 循环均质 3 次, 得到元宝枫籽油纳米结构脂质载体 (ASO-NLC)。

1.2.2 ASO-NLC 的粒径、多分散性指数与 Zeta 电位的测定

采用 Brookhaven Zeta 电位及粒度分析仪测定。

1.2.3 ASO-NLC 的微观形态观察

采用透射电镜 (TEM) 观察其形貌并拍照。

1.2.4 对秀丽线虫衰老改善作用评价

1.2.4.1 线虫的培养传代及同期化

将产卵期线虫放在涂有大肠杆菌培养基 (NGM) 上, 20 °C 下恒温培养。采用高氯酸钠漂白法对线虫进行同期化^[20]: 将产卵期成虫收集至无菌 EP 管中, 加裂解液裂解, 震荡并离心后, 下层沉淀再用 M9 缓冲溶液迅速洗涤, 离心后, 在无菌操作下, 将底部线虫虫卵滴于 NGM 培养基无菌区, 恒温培养 (20 °C) 48 h 后虫卵发育成 L4 期成虫, 同期化操作完成。

1.2.4.2 致死率试验

ASO 及 ASO-NLC 配制成不同质量浓度 (0、0.1、1、10、100、200、500 μg/mL), NGM 板上 (无 OP50) 20 °C 培养 24 h, 观察线虫的致死率。

1.2.4.3 实验分组

将线虫分为空白对照组 (NC), 质量浓度 100 μg/mL 的 ASO 组 (ASO-100) 和质量浓度分别为 50、100、200 μg/mL 的 ASO-NLC 高、中、低剂量组 (分别命名为 ASO-NLC-50、ASO-NLC-100、ASO-NLC-200)。

1.2.4.4 线虫寿命及产卵量测定

挑取 1.2.4.1 同期化幼虫到涂有 ASO 和 ASO-NLC 样品的 NGM 上。每组 3 个平板, 每个平板含 50 条线虫, 于 20 °C 恒温培养。前 5 d 每天将线虫转到新板上并记录线虫存活数量; 5 d 后改为 2 d 一次转板, 记录线虫存活数量, 直至线虫全部死亡后绘制其生存曲线图。

每组挑取 1 条线虫单独培养, 每个样品 3 个平行, 具体参照田東昕等^[21]的方法。线虫前 5 d 每天转板, 后每隔 2 d 转板, 记录产卵数, 直到不再产卵, 即可测得每组线虫的总产卵量。

1.2.4.5 线虫运动能力测定

各组设置 3 个平行, 在培养第 5、10 和 15 天观察线虫的行动力, 记录标准参照 Yang 等^[22]的方法。

1.2.4.6 线虫热应激及急性氧化应激寿命实验

经样品干预 72 h 后的 L4 期线虫转移至 37 °C 培养箱中继续培养 12 h, 每小时记录一次线虫的生存数量, 直至所有线虫全部死亡, 绘制生存曲线。每组设 3 个平行, 每板 30 条线虫。

经样品干预 72 h 后的 L4 期线虫, 转移至添加双氧水的 NGM 培养基中, 每小时记录一次线虫的生存数量, 直至线虫全部死亡, 绘制生存曲线。每组 3 个平行, 每板 30 条线虫。

1.2.4.7 线虫体内抗氧化活性测定

收集经样品干预 72 h 的线虫，参照 Li 等^[23]的方法制成体积分数为 5% 的匀浆，按照相关试剂盒说明书进行抗氧化酶活力及 MDA 的测定，每组平行 3 次。

1.2.4.8 线虫细胞凋亡染色测定

参考王力等^[24]方法：收集经样品干预 72 h 的线虫，将其放入 25 μg/mL 吖啶橙溶液中 25 ℃ 暗处孵育 1 h，然后经 M9 缓冲液洗涤后，将其转移到新的 NGM 上进行麻醉后，置于质量分数 3% 琼脂糖载玻片上，在荧光显微镜下观察，拍照并计算荧光强度，激发波长和发射波长分别为 485 nm 和 530 nm。

1.2.5 数据统计及分析

所有数据均以平均值 ± 标准偏差表示，利用 GraphPad Prism 9 软件对实验进行统计分析， $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 ASO-NLC 的性状表征

表 1 ASO 脂肪酸组成	
Table 1 Composition and content of fatty acids of ASO	
脂肪酸名称	含量/(g/100 g)
亚油酸 Linoleic acid (C18:2)	36.40 ± 0.15
油酸 Octadecenoic acid (C18:1)	22.60 ± 0.16
芥酸 Erucic acid (C22:1n9)	15.80 ± 0.14
花生烯酸 Cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	7.82 ± 0.12
神经酸 Nervonic acid (C24:1)	5.57 ± 0.02
棕榈酸 Hexadacanoic acid (C16:0)	4.29 ± 0.16
硬脂酸 Stearic acid (C18:0)	2.70 ± 0.17
α-亚麻酸 α-Linolenic acid (C18:3)	2.07 ± 0.06
γ-亚麻酸 γ-Linolenic acid (C18:3)	0.83 ± 0.03
山嵛酸 Behenic acid (C22:0)	0.81 ± 0.06

制备 ASO-NLC 的 ASO 中脂肪酸组成见表 1。经熔融乳化-超声法制备得到的 ASO-NLC 为乳白色液体状，具有可可油的特殊香味，外观均匀细腻；透射电镜下可观察到其微观结构外形呈圆球状，而且分布均匀（图 1）。ASO-NLC 于 5 000 r/min 离心 5 min 和 10 000 r/min 离心 3 min，均未出现分层和沉淀现象，说明其具有良好的离心稳定性。经 Zeta 电位及粒度分析仪测定，ASO-NLC 粒径为 244.40 nm，PDI 为 0.17，粒径符合预期要求，即达到粒径 100~500 nm 经口服给药可以提高药物的

稳定性^[25]；同时 PDI 值低于 0.3 的粒径分布有利于纳米结构脂质载体的长期稳定性且粒度分布均匀^[26]；Zeta 电位反映的是带电粒子间的排斥程度，ASO-NLC 的 Zeta 电位为 -30.07 mV 可以为纳米结构脂质载体提供足够的排斥力以维持其稳定体系^[27]。结果表明 ASO-NLC 为粒径小，分布范围窄，外观形态好的稳定口服制剂。

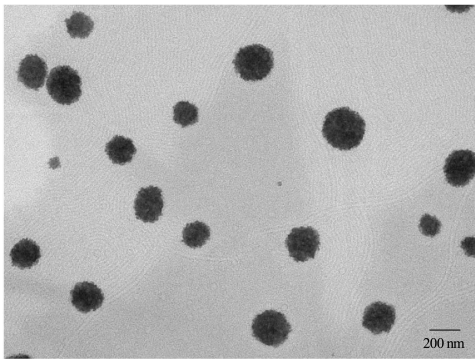


图 1 ASO-NLC 透射电镜图

Fig.1 Transmission electron microscopy of ASO-NLC

2.2 ASO-NLC 的安全性

给予系列质量浓度的 ASO、ASO-NLC 干预的线虫在 NGM 板上（无 OP50）20 ℃ 培养 24 h 后，各组均无死亡。说明 ASO 及 ASO-NLC 在 500 μg/mL 质量浓度下对秀丽隐杆线虫不会产生毒害作用。因此实验中 ASO-NLC 考察的质量浓度确定为 50、100、200 μg/mL。

2.3 ASO-NLC 对线虫寿命的影响

表 2 ASO-NLC 对线虫寿命的影响			
Table 2 The effect of ASO-NLC on lifespan of nematodes			
组别	寿命中位数/d	平均寿命/d	最长寿命/d
NC	10.11 ± 0.60	7.50 ± 1.10	14.20 ± 1.10
ASO-100	11.03 ± 0.70	9.60 ± 0.90**	16.00 ± 0.80*
ASO-NLC-50	10.01 ± 0.40	8.40 ± 1.30*	21.33 ± 1.10**
ASO-NLC-100	11.33 ± 0.60	9.70 ± 1.10**	22.00 ± 1.20**
ASO-NLC-200	13.33 ± 0.50*	10.20 ± 1.20**	22.30 ± 1.10**

注：与 NC 组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

寿命的长短是衡量线虫衰老最重要的指标。ASO-NLC 对线虫寿命的影响见表 2、图 2。结果显示，经 ASO-NLC 干预后，线虫寿命明显延长。ASO-NLC 低、中、高剂量组对寿命中位数和平均寿命的影响呈现一定量效关系，ASO-NLC 三个剂量组最长寿命均比 NC 组延长了 50.21% 以上，

ASO 组只延长了 14.29%，ASO-NLC 优于 ASO 组。ASO-NLC 高剂量组平均寿命比空白组延长了 36.00%，效果最为突出。ASO-NLC-100 与 ASO-100 组相比，最长寿命具有显著性差异 ($P < 0.05$)，延长了 37.50%；中位数及平均寿命没有显著性差异 ($P > 0.05$)。据 Zhang 等^[18]报道，元宝枫叶总黄酮也有抗衰老作用。

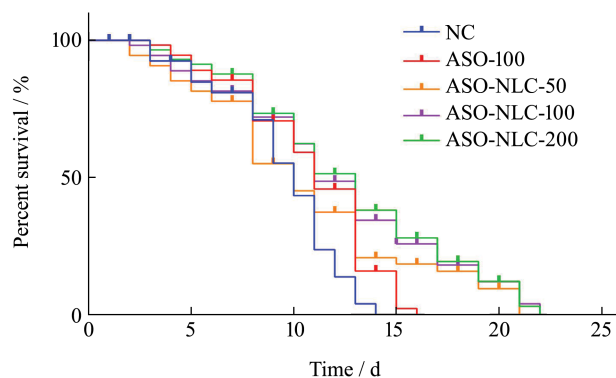


图 2 线虫生存曲线图

Fig.2 The effect of ASO-NLC on lifespan of nematodes

2.4 ASO-NLC对线虫生殖与生育能力的影响

线虫产卵量与其生殖能力直接相关，而通常生物生殖能力又与寿命的延长呈负相关^[28]。本研究中，线虫集中在前 3 d 产卵，到第 5 天基本不再产卵，图 3 显示的是 5 天内各组线虫总产卵量。如图所示，与 NC 组相比，ASO-100 组、ASO-NLC-50 和 ASO-NLC-100 组产卵量略有提高，但无显著性差异；而 ASO-NLC-200 组提高了 14.03%，差异显著 ($P < 0.05$)，表明 ASO-NLC 在延长线虫寿命的同时不会导致其生殖能力下降。

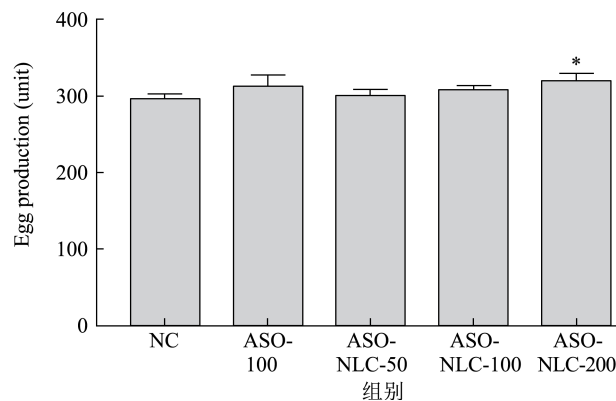


图 3 线虫 5 d 总产卵量

Fig.3 5-day total oviposition quantity of nematodes

注：与 NC 组比较，* $P < 0.05$ 。

2.5 ASO-NLC对线虫运动能力的影响

线虫的运动能力与其寿命直接关联，可作为评

价其衰老速度的重要指标^[29]。行动力可分为三个等级为 A、B、C，判断标准为：线虫自主活动自如定义为 A，仅在挑针触碰头部或尾部后开始爬行定义为 C，介于两者之间的为 B。如图 4 所示，随着生存时间的延长，线虫逐渐衰老，其运动能力逐渐下降。培养的前 5 d，ASO-NLC 对线虫的运动状态无显著影响 ($P > 0.05$)；培养 10 d 后，与 NC 组相比，ASO-100 及 ASO-NLC 三个剂量组均能显著提高线虫的蠕动力 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；在培养到 15 d 时，NC 组中线虫运动状态主要处于 B 等级和 C 等级，ASO 和 ASO-NLC 干预组线虫运动状态为 A 等级的显著高于 NC 组 ($P < 0.01$)，且高剂量组效果最好。此外，相同剂量下，第 10 天时，ASO-NLC-100 组处于 A 等级的比例比 ASO-100 组比例高 6.04% ($P < 0.05$)；第 15 天时 ASO-NLC-100 组处于 A 等级的比例比 ASO-100 组比例高 16.03% ($P < 0.05$)，ASO-NLC 表现出一定优势。

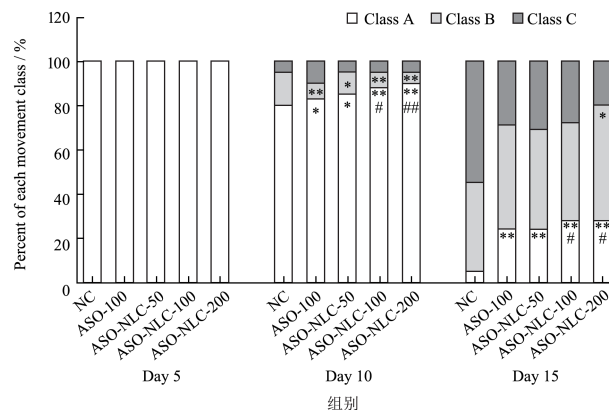


图 4 ASO-NLC 对线虫运动能力的影响

Fig.4 The effect of ASO-NLC on motility of nematodes

注：与 NC 组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与 ASO-100 组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

2.6 ASO-NLC对线虫体内抗氧化能力的影响

随着年龄的增长机体的新陈代谢速度会逐渐减慢，大量的活性氧自由基，会引发氧化应激，破坏细胞大分子，从而加快衰老的进程，最终导致人们的健康状况下降^[30,31]。提高 CAT、SOD 和 GSH-Px 等线虫体内主要的抗氧化酶活力，对清除体内多余的自由基，促进氧化平衡有很好的作用^[32]。图 5 为经 ASO 和 ASO-NLC 干预 72 h 后，线虫体内抗氧化酶活力及 MDA 含量。结果显示，与 NC 组比较，ASO-NLC 低、中、高三个剂量组 GSH-Px 活力明显提高，分别提高了 21.58%、36.00%、48.81%；CAT 活力分别提高 22.42%、43.10%、58.58%；

SOD 活力提高了 16.11%、41.49%、75.88%；MDA 减少了 6.81%、22.32%、34.89%。低、中、高剂量组呈现一定的量效关系。同时，ASO-NLC-100 与 ASO-100 比较，SOD、CAT、GSH-Px 活力显著增加 ($P < 0.05$)，MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$)，表明 ASO-NLC 可缓解线虫氧化损伤及衰老，且比 ASO 更有优势。ASO-NLC 能一定程度上激活线虫体内抗氧化防御系统，应该与元宝枫籽油中不饱和脂肪酸含量超过 91.09%，神经酸 5.57% (表 1) 有关。有报道^[9]神经酸可通过不饱和脂肪酸代谢，上调花生四烯酸和 α -亚麻酸去抵抗氧化应激带来的神经损伤，在基因表达上发现神经酸会激活超氧化物歧化酶-3 (*sod-3*)、谷胱甘肽 S-转移酶-4 (*gst-4*)，寿命调控因子 *daf-16* 增强线虫氧化应激的抵抗能力，延长线虫的寿命。

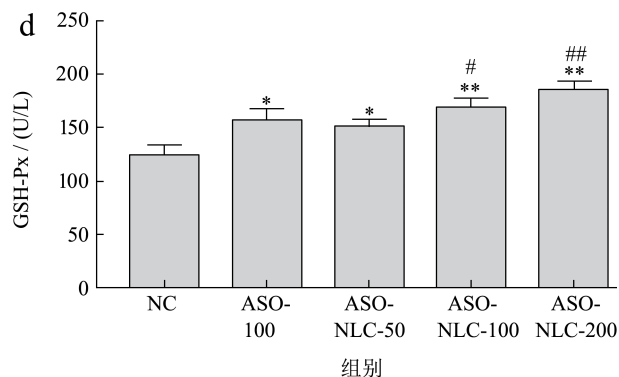
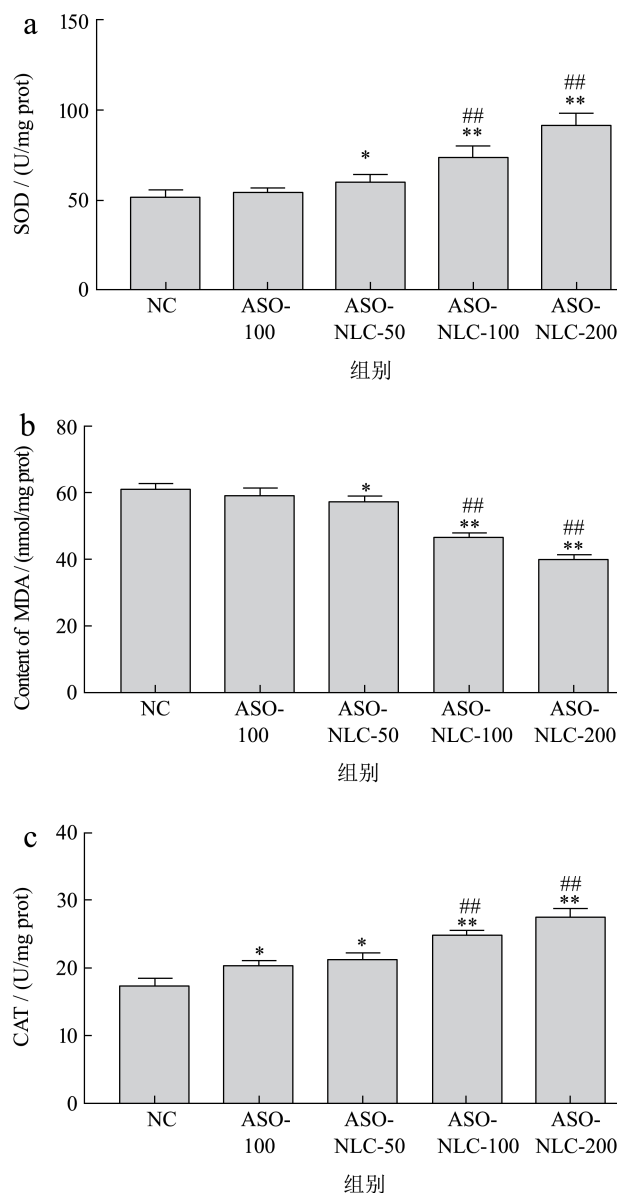


图 5 ASO-NLC 对线虫体内 SOD (a)、MDA (b)、CAT (c)、GSH-Px (d) 的影响

Fig.5 The effect of ASO-NLC on SOD (a), MDA (b), CAT (c), and GSH-Px (d) in nematodes

注：与 NC 组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与 ASO-100 组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

2.7 ASO-NLC对线虫热应激与氧化应激的影响

高温会导致机体内部代谢紊乱、酶失活等，使机体内产生大量的活性氧 (ROS)，引起氧化应激^[33]。氧化应激可导致细胞衰老，造成组织损伤，被认为是导致衰老和疾病的重要因素之一^[34]。热应激实验结果 (图 6) 中，与 NC 组相比，前期各组无明显差异；4 h 后 ASO，ASO-NLC 各剂量组存活率显著提高，存活时间明显延长 ($P < 0.05$)，最长存活时间均可达到 10.00 h，比 NC 组增加了 1.00 h。说明 ASO-NLC 可以提高线虫抗热应激能力。

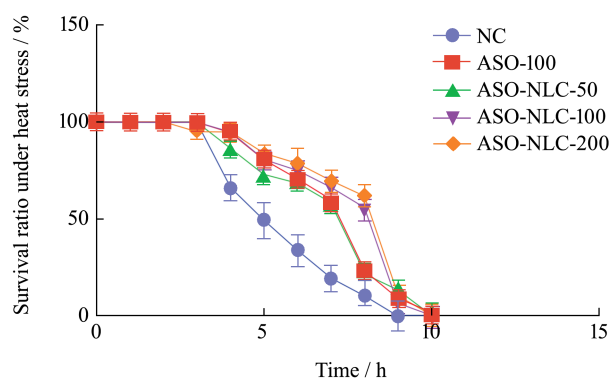


图 6 ASO-NLC 对线虫热应激反应的影响

Fig.6 The effect of ASO-NLC on the response of nematodes to heat stress

急性氧化应激试验结果 (图 7) 显示，与 NC 组相比，前期各组无明显差异；在 3 h 后 ASO-NLC 各剂量组存活率显著提高，存活时间明显延长 ($P < 0.05$)，最长存活时间均为 9.02 h，比 NC 组延长了 3.03 h。说明 ASO-NLC 可以提高线虫急性氧化应激能力。

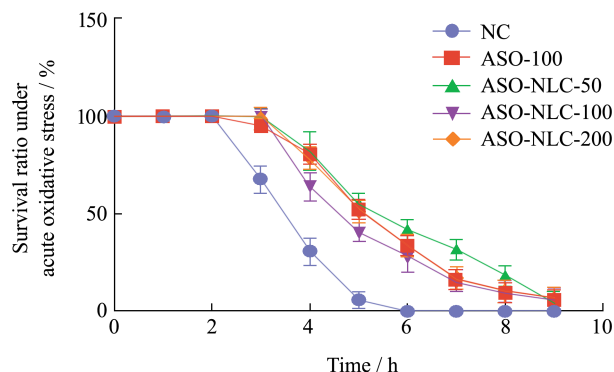


图7 ASO-NLC对线虫氧化应激反应的影响

Fig.7 The effect of ASO-NLC on the response of nematodes to oxidative stress

2.8 ASO-NLC对线虫细胞凋亡的影响

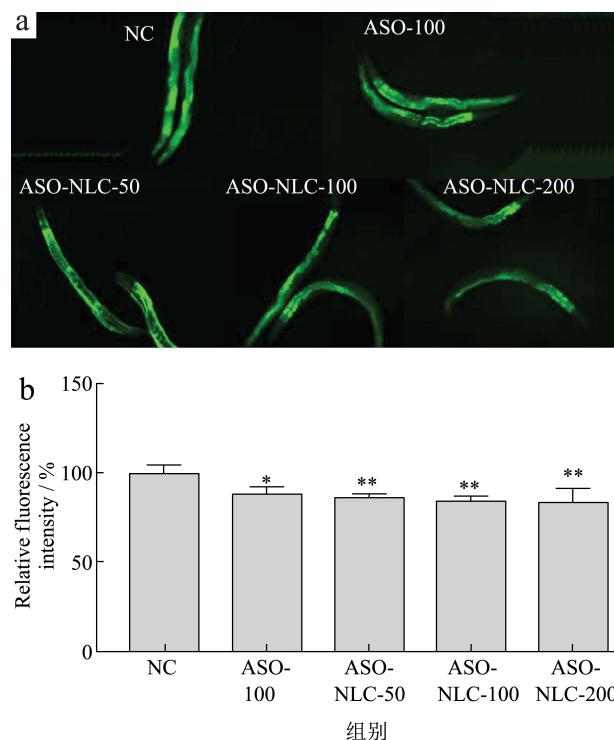


图8 ASO-NLC对线虫细胞凋亡的影响

Fig.8 The effects of ASO-NLC on cell apoptosis in nematodes

注：a. 荧光显微镜图；b. 各组相对荧光强度柱状图。与NC组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

DNA损伤与细胞凋亡密切相关，线虫DNA的状况可通过吖啶橙染色结果直观反映。吖啶橙染色下，凋亡细胞染色增强，荧光更为明亮，形成致密浓染的黄绿色荧光或黄绿色碎片颗粒；而非凋亡细胞核则表现为荧光深浅不一^[35]。如图8a所示，NC组线虫虫体呈亮绿色，经ASO与ASO-NLC各剂量组干预72h的线虫虫体总体呈暗绿色，荧光强度有所降低且深浅不一。由图8b可知，ASO-NLC-50、

ASO-NLC-100、ASO-NLC-200组相对荧光强度分别比NC组减弱了13.71%、15.69%和17.00%，差异达到极显著水平($P < 0.01$)，表明ASO-NLC可减少线虫细胞凋亡。ASO-NLC-100与ASO-100相比，荧光强度有所下降，但没有显著性差异($P > 0.05$)。牡蛎多肽^[24]和菜芙蓉多糖^[35]也有类似的活性报道。

3 结论

采用熔融乳化-超声法制备的元宝枫籽油纳米结构脂质载体(ASO-NLC)，其粒径小于500 nm，多分布系数小于0.3，Zeta电位为-30.0 mV左右，离心稳定性好，是一种稳定性良好的口服制剂。ASO-NLC延缓线虫衰老的作用评价结果表明，ASO-NLC能够显著延长线虫寿命，最长寿命比空白组可延长50.21%以上，平均寿命延长12.00%~36.00%，并且对线虫生殖能力不产生负影响；培养10 d后，ASO-NLC表现出可显著提高线虫运动能力，且随着培养时间的延长作用越发明显；ASO-NLC可增加GSH-Px、CAT、SOD酶活性，降低MDA含量，从而缓解线虫氧化损伤及衰老，激活线虫体内抗氧化防御系统。热应激和急性氧化应激条件下，ASO-NLC能明显延长线虫存活时间，急性氧化应激下，线虫最长存活时间比空白组延长了1.50倍。ASO-NLC可以减轻线虫DNA的损伤，减少线虫细胞凋亡。总之，ASO-NLC能有效延缓线虫衰老，且在本实验剂量范围内，高剂量效果最为突出。本研究为元宝枫资源的开发利用，元宝枫籽油功能型多元化产品的研发提供理论依据。

参考文献

- TERLUK M R, TIEU J, SAHASRABUDHE S A, et al. Nervonic acid attenuates accumulation of very long-chain fatty acids and is a potential therapy for adrenoleukodystrophy [J]. *Neurotherapeutics*, 2022, 19(3): 1007-1017.
- LI Q, CHEN J, YU X, et al. A mini review of nervonic acid: source, production, and biological functions [J]. *Food Chemistry*, 2019, 301(C): 125286.
- 王性炎, 谢胜菊, 王高红. 中国富含神经酸的元宝枫籽油应用研究现状及前景[J]. *中国油脂*, 2018, 43(12): 93-95, 104.
- 安玉红, 关天琪, 郭艳红, 等. 元宝枫籽油对高脂膳食小鼠脂代谢及肠道健康的影响[J]. *中国油脂*, 2022, 47(8): 103-108.
- LI X, LI T, HONG XY, et al. *Acer truncatum* seed oil

- alleviates learning and memory impairments of aging mice [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 680386.
- [6] SONG W T, ZHANG K, XUE T, et al. Cognitive improvement effect of nervonic acid and essential fatty acids on rats ingesting *Acer truncatum* Bunge seed oil revealed by lipidomics approach [J]. *Food Funct*, 2022, 13(5): 2475-2490.
- [7] 李彤,孙红伟.元宝枫油对一次性力竭运动大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J].*重庆医学*,2017,46(22):3043-3045.
- [8] 赵家和,刘媛媛,姚丹,等.固体脂质纳米粒与纳米结构脂质载体的制备和质量评估研究进展[J].*中国油脂*, 2024,49(10):72-79,89.
- [9] JENNING V, THÜNEMANN A F, GOHLA S H. Characterisation of a novel solid lipid nanoparticle carrier system based on binary mixtures of liquid and solid lipids [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 199(2): 167-177.
- [10] RISHI P, RAI S P, RAMESHROO K, et al. Solid lipid nanoparticles: a review on recent perspectives and patents [J]. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2020, 30(3): 179-194.
- [11] GOMES D S M, RODRIGUES D G K R, LÚCIA G M, et al. Developed and characterization of nanostructured lipid carriers containing food-grade interesterified lipid phase for food application [J]. *Food Research International*, 2022, 155: 111119.
- [12] BELOQUI A, SOLINÍS M Á, RODRÍGUEZ-GASCÓN A, et al. Nanostructured lipid carriers: promising drug delivery systems for future clinics [J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2016, 12(1): 143-161.
- [13] 史凡,杨红.纳米结构脂质载体制备及在功能食品中的应用研究进展[J].*食品工业科技*,2023,44(15):1-6.
- [14] DEBORA S, CARMELO P. Applications of lipid-based nanocarriers for parenteral drug delivery [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2022, 29(24): 4152-4169.
- [15] LI H, XUE H H, XI Y, et al. Novel nano-drug delivery system for natural products and their application [J]. *Pharmacological Research*, 2024, 201: 107100.
- [16] TCHKONIA T, KIRKLAND J L. Aging, cell senescence, and chronic disease: emerging therapeutic strategies [J]. *JAMA*, 2018, 320(13): 1319-1320.
- [17] KATSUYOSHI M. Frailty and *Caenorhabditis elegans* as a benchtop animal model for screening drugs including natural herbs [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2018, 5: 111.
- [18] ZHANG X Y, WANG D S, LI X, et al. A new utilization of total flavonoids from *Acer truncatum* samara and leaves: Anti-aging and metabolic regulation [J]. *Industrial Crops Products*, 2023, 203 (1): 117207
- [19] 曹元洛.元宝枫籽油中神经酸神经修复功能的研究[D].无锡:江南大学,2023
- [20] ONKEN B, DRISCOLL M. Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* Healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1 [J]. *PloS One*, 2010, 5(1): e8758.
- [21] 田柬昕,钟碧玺,梁杉,等.红鲮鱼胶对秀丽隐杆线虫的体内抗衰老作用[J].*现代食品科技*,2023,39(3):37-44.
- [22] YANG J, WAN Q L, MU Q Z, et al. The lifespan-promoting effect of otophyllouside B in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Natural Products and Bioprospecting*, 2015, 5(4): 177-183.
- [23] LI Y, CHU Q, LIU Y, et al. Radix Tetrastigma flavonoid ameliorates inflammation and prolongs the lifespan of *Caenorhabditis elegans* through JNK, p38 and Nrf2 pathways [J]. *Free Radical Research*, 2019, 53(5): 562-573.
- [24] 王力,肖媚方,陈弘培,等.牡蛎多肽组分OE-I抗氧化活性及其对秀丽隐杆线虫抗衰老作用[J].*食品科学*,2022, 43(3):152-160.
- [25] DUONG T T, ISOMÄKI A, PAAVER U, et al. Nanoformulation and evaluation of oral berberine-loaded liposomes [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2021, 26(9): 2591.
- [26] LIN L, ZHU Y L, THANGARAJ B, et al. Improving the stability of thyme essential oil solid liposome by using β -cyclodextrin as a cryoprotectant [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 188: 243-251.
- [27] SOLEIMANIAN Y, GOLI S A H, VARSHOSAZ J, et al. Formulation and characterization of novel nanostructured lipid carriers made from beeswax, propolis wax and pomegranate seed oil [J]. *Food Chemistry*, 2018, 244: 83-92.
- [28] GRUBER J, TANG S Y, HALLIWELL B. Evidence for a trade-off between survival and fitness caused by resveratrol treatment of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2007, 1100: 530-542.
- [29] 李煜,敬海明,李国君.秀丽隐杆线虫神经毒理学研究进展[J].*中国公共卫生*,2013,29(4):622-624.
- [30] ZIA A, FARKHONDEH T, POURBAGHER-SHAHRI A M, et al. The Roles of mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species in aging and senescence [J]. *Current Molecular Medicine*, 2022, 22(1): 37-49.
- [31] BALLARD J W O, TOWARNICKI S G. The gut microbiome and ROS [J]. *Cellular Signalling*, 2020, 75: 109737.
- [32] HUI H, XIN A, CUI H, et al. Anti-aging effects on *Caenorhabditis elegans* of a polysaccharide, O-acetyl glucomannan, from roots of *Lilium davidii* var. unicolor Cotton [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 846-852.
- [33] LI H, LIU Y, GU Z, et al. p38 MAPK-MK2 pathway regulates the heat-stress-induced accumulation of reactive oxygen species that mediates apoptotic cell death in glial cells [J]. *Oncology Letters*, 2018, 15(1): 775-782.
- [34] FINKEL T, HOLBROOK N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing [J]. *Nature*, 2000, 408(6809): 239-247.
- [35] 杜星芳,贾艳丽,韩紫薇,等.菜芙蓉多糖对秀丽隐杆线虫抗氧化作用的研究[J].*河北科技大学学报*,2022,43(3): 308-318.