

辣木籽水提物对酒精诱导线虫运动功能障碍的影响

Moringa oleifera seed water extract protects alcohol-induced movement disorder in *Caenorhabditis elegans*

彭颖

PENG Ying

(长沙商贸旅游职业技术学院, 湖南 长沙 410116)

(Changsha Commerce and Tourism College, Changsha, Hunan 410116, China)

摘要:用不同浓度的辣木籽水提物干预醉酒秀丽隐杆线虫,观察其运动情况,并探究其组织内部乙醇浓度、钙调神经磷酸酶及乙酰胆碱酯酶活的变化情况,以探究辣木籽水提物对醉酒线虫生理变化的影响。结果显示,辣木籽水提物干预浓度为10 mg/mL时,线虫的运动轨迹、摆头频率及吞咽频率与对照组线虫相比,其运动能力显著提高,但与正常组线虫无明显差异。辣木籽水提物能抑制乙醇在线虫体内的积累及钙调神经磷酸酶的过表达,增强乙酰胆碱酯酶的酶活力,以提高线虫抗酒精胁迫能力。说明低浓度的辣木籽水提物有缓解醉酒线虫运动障碍的作用。

关键词:辣木籽;酒精;秀丽隐杆线虫;内部酒精浓度;运动障碍

Abstract: It was investigated the alleviating effect of water-extracts from *Moringa oleifera* seeds (MWE) on alcohol damage, and explored the effects of *Moringa* seeds on the physiological changes of drunk nematodes. Different concentrations of MWE were used to interfere with nematodes drunkenness. Its movement, tissue ethanol concentration, calcineurin and acetylcholinesterase activity were evaluated. The results showed that the intervention concentration of MWE was 10 mg/mL, and the movement trajectory, frequency of head swinging and swallowing frequency of the nematode were significantly improved, compared with the control group. However, no significant difference was found compared to the un-treated group. MWE reduced the tissue ethanol concentration and the overexpression of calcineurin, increased the activity of acetylcholinesterase, and the resistance against alcohol stress in nematodes. These results suggest that the low concentration of MWE can protect alcohol-induced movement

disorder in *Caenorhabditis elegans*.

Keywords: *Moringa oleifera*; alcohol; *Caenorhabditis elegans*; tissue ethanol concentration; movement disorder

长期大量饮酒不仅引起酒精嗜好性,而且影响机体代谢平衡。乙醇氧化分解产生大量乙醛及自由基,损伤肝胃等器官,还阻断神经信号的传送,使机体的运动不协调、不受控制^[1],甚至酒精中毒。虽然药物能缓解酒精毒性,但对机体会造成一定的负面作用,因此,天然植物提取物成为了学者们关注的热点。

辣木籽是辣树的种子,原产于印度,如今在亚洲、非洲、中美洲等地已被大规模种植。辣木籽因其营养丰富,已有直接食用或粗加工作为食品辅料的饮食史。研究表明,辣木籽含有丰富的挥发性油、维生素、黄酮、多酚、多糖、生物碱和皂苷等成分^[2-3],而且其水提液和醇提液具有抗氧化能力^[4],可以通过降低氧化应激以抵抗炎症反应的发生^[5],能显著降低乙醇诱导的肝脏脂质过氧化^[6]。近年来,对辣木籽抗氧化能力的研究较多,但研究其解酒能力的较少,而且未见辣木籽水提物减弱酒精对运动神经影响的文献报道。黄颖等^[7]研究发现辣木籽中的多酚物质能显著提升肝脏乙醇脱氢酶、乙醛脱氢酶活力,降低血液酒精浓度。但未从行为学及神经代谢酶角度分析辣木籽的解酒水平。

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)又称为线虫,其神经系统结构简单,功能完善,是神经活性物质靶标测定的理想动物模型^[8]。研究拟以线虫为模式生物,研究辣木籽水提物对酒精胁迫运动功能障碍的影响,以期为辣木籽的解酒功效提供表征层面上的理论依据,促进辣木籽资源的开发与利用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大肠杆菌(*E.coli* OP50)、野生型秀丽隐杆线虫(the

基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(编号:19C0121)

作者简介:彭颖(1987—),女,长沙商贸旅游职业技术学院讲师,硕士。E-mail:631362091@qq.com

收稿日期:2020-04-29

Bristol strain N2); 国际线虫遗传中心;

辣木籽: 云南元江县苍源林果科技有限公司;

无水乙醇、氯化钙、氯化钠、氢氧化钠、硫酸镁、蛋白胨、琼脂、酵母粉等: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

5-氟尿嘧啶脱氧核苷(FUDR): 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;

钙调神经磷酸酶(CaN)试剂盒: 上海酶联生物科技有限公司;

乙酰胆碱酯酶(AchE)试剂盒: 索莱宝生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

电热恒温培养箱: MJX-250B-Z 型, 上海博迅实业有限公司;

冷冻离心机: TGL-20M 型, 长沙英泰仪器有限公司;

倒置荧光显微镜: TS2R 型, 成贯仪器(上海)有限公司;

气相色谱仪: 6890N 型, 上海本昂科学仪器有限公司;

酶标仪: Multiskan FC 型, 济南来宝医疗器械有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备 辣木籽剥皮后, 种子经干燥粉碎, 过 60 目筛。以料液比 1 : 10 (g/mL) 加入超纯水, 95 °C 浸提 1 h, 重复操作两次, 合并两次滤液, 经浓缩后冻干备用。辣木籽水提物的提取效率为 18.34 %。

1.3.2 秀丽隐杆线虫的同期化与培养 参考文献[9]。用于试验的线虫采用液体培养(培养液即虫液), 干预时虫液的终浓度控制在(200±10)条/mL。为避免个体差异对试验结果造成影响, 秀丽隐杆线虫经同期化 3 次后, 方能用于各指标的检测。

1.3.3 试验分组及药物处理 课题组^[10]前期研究表明, 在 3% 酒精浓度干预下, 线虫表现出醉酒的生理状态, 因此选用 3% 的酒精浓度进行醉酒线虫的造模。

同期化后的线虫生长至 L4 期, 完成幼虫阶段最后一次蜕皮进入成虫期时, 加入终浓度为 0.12 mmol/L 的 FUDR 溶液, 以抑制线虫产卵及卵的孵出。12 h 后, 将虫液分为等体积的 6 组至三角瓶中, 分别为: A 组(空白组), B 组(对照组, 酒精浓度为 3%), C~F 组为辣木籽水提物干预试验组。辣木籽水提物粉末用 3% 酒精溶液溶解, 并通过 0.22 μm 的过滤膜, 使 C~F 组中辣木籽的终浓度分别为 10, 20, 30, 40 mg/mL, 酒精浓度为 3%。每组设 3 个平行。

1.3.4 线虫头部摆动频率的测定 参考文献[11—12]。在 20 °C 下轻微震荡培养 24 h 后分别吸取各组虫液 15 μL 于 NGM 板上(每个板上线虫数量为 30 条左右), 待线虫恢复运动 5 min 后, 在体视显微镜下观察并记录 30 s 内每条线虫头部的摆动次数。线虫头部摆动频率定义为线虫头部从一侧摆向另一侧, 角度>90°记为摆动 1 次。

1.3.5 线虫吞咽频率的测定 在 20 °C 下轻微震荡培养 24 h 后分别吸取各组虫液 15 μL 于 NGM 板上(每个板上线虫数量为 30 条左右), 待线虫恢复运动 5 min 后, 在体视显微镜下观察并记录 30 s 内每条线虫的咽部吞咽次数, 作为线虫吞咽频率的指标^[13]。

1.3.6 线虫运动轨迹的测定 线虫干预 24 h 后, 移取 10 μL 虫液于没有食物的 NGM 板上, 让其自由运动 2 min, 观察各组线虫在 NGM 板上的运动轨迹并拍照, 收集线虫运动轨迹的横波和纵波波长, 综合分析各组线虫的运动性能。

1.3.7 线虫内部酒精浓度的测定 采用气相色谱法^[14—15]。

(1) 预处理: 线虫干预结束后, 于 2 500 r/min 离心 2 min 收集虫体, 并用 0.9% 生理盐水清洗虫体 3 遍。再次离心去除上清液, 用无菌水将虫液重悬至 1 mL, 在冰水浴中进行超声破碎(超声 3 s, 间隔 3 s, 工作时间 3 min)。于 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清。在上清中加入终浓度为 0.002% 的正丁醇, 样品待测液经 0.22 μm 无机滤膜过滤后, 上机待测。用同样方法制备平行样, 供上机测试。

(2) 色谱条件: 色谱柱为 HP-INNO Wax 毛细柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。柱温 60 °C 保持 3 min, 以 10 °C/min 的升温速率升至 80 °C, 共 6.5 min, 检测器温度 250 °C; 载气(氮气)流速 1.2 mL/min; 不分流模式, 进样量 0.5 μL。

(3) 酒精标准曲线制作: 以 0.002% 的正丁醇作为内标, 分别加入 0.000 5%, 0.001 0%, 0.002 0%, 0.003 0%, 0.004 0% 终浓度的乙醇标品, 进行标曲的制作。标准曲线方程为: $Y=25.036X-0.0582$, $R^2=0.9997$ 。

1.3.8 线虫钙调神经磷酸酶、乙酰胆碱酯酶的测定 线虫在干预 24 h 后, 处理方式同 1.3.7(1)。用 M9 清洗虫体 3 遍, 在冰水浴下进行细胞破碎, 提取蛋白提取液, 用于钙调神经磷酸酶、乙酰胆碱酯酶的检测。检测方法参照试剂盒说明书。

1.3.9 数据分析 试验结果采用 SPSS 18.0 软件进行数据统计分析, 数据表示为平均值±标准差($\bar{X} \pm SD$)。通过邓肯方差分析进行统计学显著性检验, $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 认为存在显著性差异, 以不同小写字母标记。

2 结果与分析

2.1 辣木籽水提物对线虫头部摆动频率的影响

由图 1 可知, 对照组线虫的头部摆动频率显著低于空白组($P<0.05$), 说明线虫在 3% 酒精浓度干预下, 酒精阻碍线虫头部的摆动, 导致线虫处于酒精胁迫的状态。相比对照组, 药物组(C~F)的线虫头部摆动频率随辣木籽水提物浓度的增加呈下降的趋势, 当辣木籽水提物浓度达到 40 mg/mL(F 组)时线虫的头部运动受到限制, 与对照组无显著差异($P>0.05$), 说明辣木籽水提物浓度过

高对线虫头部摆动有限制作用;当辣木籽水提物浓度为 10 mg/mL(C 组)时线虫的头部运动较对照组有显著提高($P<0.05$),说明低浓度的辣木籽水提物能保护线虫的摇头运动。

2.2 辣木籽水提物对线虫吞咽频率的影响

在液体培养环境中,线虫会保持不断吞咽的状态。造模后,线虫体内的酒精浓度较高,会麻痹神经元,导致其陷入昏睡状态,逐渐减慢吞咽频率。从图 2 可以看出,对照组的线虫在酒精的干预下,吞咽速度显著减缓($P<0.05$),相比空白组线虫的正常吞咽速度下降了 41.45%。而加入低浓度辣木籽水提物(10, 20 mg/mL)的线虫较对照组吞咽次数明显增加($P<0.05$),且在 10 mg/mL 水提物作用下的线虫的吞咽次数是对照组的 1.46 倍。说明低浓度的辣木籽水提物可以缓解酒精对线虫的麻痹作用,缓解酒精诱导线虫昏睡、停止进食的状态。

低浓度(10 mg/mL)的辣木籽水提物对线虫的头部摆动运动及吞咽运动均能起到保护作用,减弱酒精导致线虫的运动障碍。有研究^[16]发现,辣木籽能明显改善认知功能障碍和神经元损伤,对神经系统具有保护作用。因此,这可能与辣木籽水提物能保护运动神经有关。

2.3 辣木籽水提物对线虫运动能力的影响

由图 3 可知,线虫正常的运动轨迹为一条径直的正弦波长(A 组),而 B 组中线虫受酒精的影响,其运动能力受到抑制,无法正常摆动身体,运动曲线趋向于平缓,无

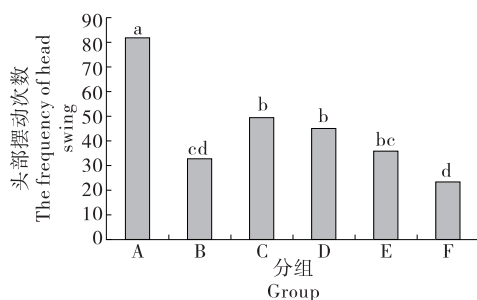


图 1 各试验组线虫的头部摆动频率

Figure 1 The frequency of the head swing in *Caenorhabditis elegans* in each group

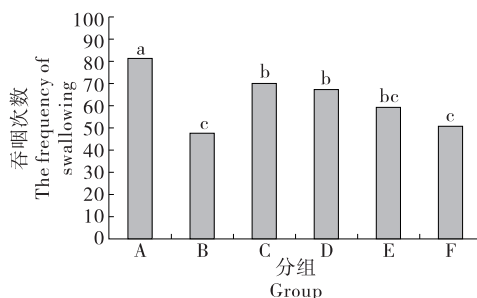


图 2 各试验组线虫的咽泵运动频率

Figure 2 The pharynx pump movement frequency of *Caenorhabditis elegans* in each group

明显的波峰。说明酒精能在一定程度上阻碍线虫的正常运动,使线虫拖尾爬行。而 C 组(10 mg/mL)线虫的运动轨迹基本和正常情况下的线虫保持一致,但随着辣木籽水提物添加浓度的增大,线虫的运动能力并没有得到恢复。说明低浓度的辣木籽水提物可以减少酒精对线虫运动能力的抑制,在整体上保护线虫免受酒精的损伤。而高浓度的辣木籽水提物则不能协助线虫恢复运动能力,无法抵抗酒精损伤。Sousa 等^[17]报道了经高温处理的高、低浓度的辣木籽提取物对线虫毒害作用及其对线虫运动性的影响。高浓度的辣木籽提取物经高温处理后,对线虫的毒害作用以及对线虫运动性的影响与未经高温处理组对比,没有显著性差异。而低浓度的五味子提取物经高温处理后,其对线虫致死率以及对线虫运动性的影响显著降低,致死率降低 40%,抑制线虫运动的能力降低 10%左右。因此,高浓度的辣木籽提取物不能保护线虫的正常生理活性,使线虫运动不活跃。而低浓度的提取物却没有明显的负面作用。

2.4 线虫组织内部乙醇浓度

检测了线虫在酒精或辣木籽水提物组干预 24 h 后,其体内乙醇积累的浓度,检测结果如图 4 所示。各辣木籽水提物组线虫的体内乙醇浓度较对照组的均显著下降($P<0.05$),但随着辣木籽水提物浓度的增大,线虫体内积累的乙醇浓度又逐渐升高。其中 10 mg/mL 辣木籽水提物组较对照组来说,线虫体内乙醇浓度下降了 63.95%,而 40 mg/mL 辣木籽水提物组线虫体内乙醇浓度仅比对照组下降了 12.98%。说明低浓度的辣木籽水提物有助于线虫减少乙醇在体内的积累。但高浓度的辣木籽水提物不能有同样的效果,可能是由于线虫在摄入食物的同时也在摄入酒精,而辣木籽水提物对线虫有一定的量效

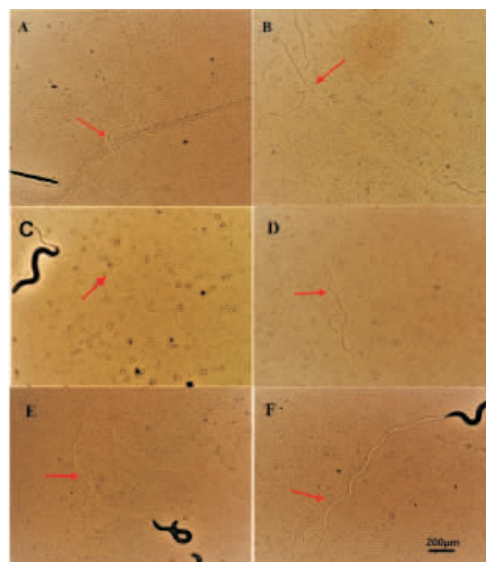


图 3 各试验组线虫的运动轨迹图

Figure 3 The movement trajectory of *Caenorhabditis elegans* in each group

关系,浓度过高会降低线虫的代谢活力,导致其体内的酒精无法及时被代谢。

2.5 线虫体内神经相关酶活力

酒精摄入后,打破了机体的正常代谢,引起线虫体内相关酶活的变化。钙调神经磷酸酶(CaN)在细胞信号传递中直接受 Ca^{2+} 的调节,参与神经信号传导,调节机体在运动中对刺激的适应过程^[18]。如图 5(a)所示,对照组与空白组相比,酒精的刺激,显著提高了线虫体内 CaN 的酶活力($P < 0.05$)。而在低浓度辣木籽水提物(10, 20 mg/mL)干预下,线虫体内的 CaN 的酶活力处于动态平衡,与空白组无显著性差异($P > 0.05$),但较对照组显著降低了 CaN 酶活力($P < 0.05$)。

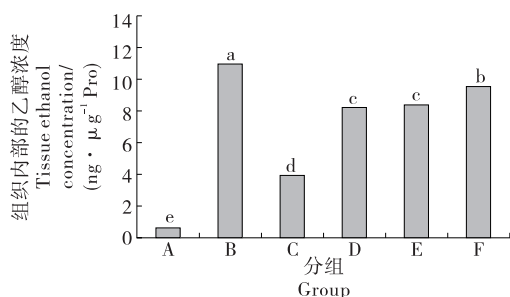
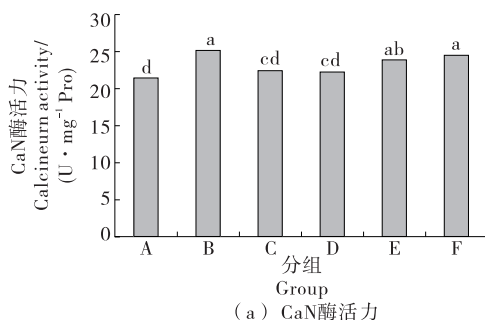


图 4 各试验组线虫组织内部的乙醇浓度

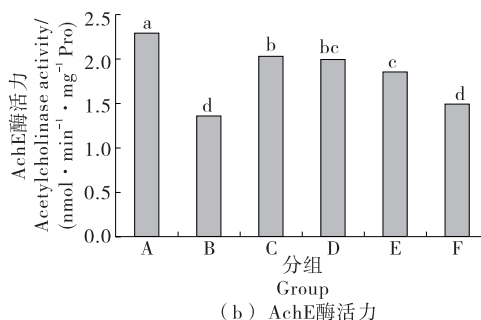
Figure 4 Tissue ethanol concentration of *Caenorhabditis elegans* in each group



(a) CaN酶活力

线虫的背、腹神经索存在着神经—肌肉突触,由兴奋性神经递质乙酰胆碱(Ach)来调节肌肉活动^[19]。乙酰胆碱酯酶(AchE)是一种关键性酶,可水解 Ach,维持正常的肌肉生理效应^[20]。如图 5(b)所示,对照组与空白组相比,线虫 AchE 酶活力显著降低($P < 0.05$),下降了 40.38%;低浓度辣木籽水提物组(10 mg/mL)线虫的 AchE 酶活力虽低于空白组的($P < 0.05$),但显著高于对照组的($P < 0.05$),提高了 48.63%。

研究^[21-22]发现酒精的摄入,使线虫体内酒精积累过多,刺激 CaN 的过表达,且抑制了 AchE 的酶活力。这可能是由于外源酒精的刺激, Ca^{2+} 离子通道被打开,造成 Ca^{2+} 大量外流入胞浆, Ca^{2+} 在胞浆中的浓度升高,激活了 CaN 的酶活性,从而 CaN 活性升高。CaN 具有促进神经元释放神经递质、肌肉组织发育的作用,增强了 Ach 释放到肌肉组织中。然而酒精抑制了 AchE 酶活力,因此无法及时分解 Ach,会引起神经—肌肉接头处 Ach 下降,使运动神经—肌肉兴奋冲动受阻,导致运动能力的下降。而低浓度的辣木籽水提物通过减少酒精在线虫体内的积累,以降低外来刺激,维持钙调神经磷酸酶酶活力的动态平衡,并有效激活了乙酰胆碱酯酶的酶活性,能及时清除突触间隙—肌肉中堆积的 Ach,维持着较高的生物活性,使得生理信息得以正确的传递,因而线虫能快速适应外环境,保持正常的生理运动。



(b) AchE酶活力

图 5 各试验组线虫体内神经相关酶的活力

Figure 5 Neural related enzyme activity of *Caenorhabditis elegans* in each group

3 结论

水提物试验从表征指标、体内酒精浓度积累以及 2 种神经调节相关酶活性方面证实,低浓度的辣木籽水提物在一定程度上保护线虫免受酒精的刺激,具有缓解酒精毒性的作用。但未能明晰具体的作用物质,且未深入到基因水平去挖掘作用机制。因此,下一阶段可进一步研究水提物的具体成分,以及对运动神经通路的影响,并深入研究辣木籽水提物各组对机体内部的整体调控作用,探寻作用靶点调节机体的整体代谢水平的机制。

参考文献

- [1] 王顺福,周晓玲.解酒汤对抗酒精引起平衡失调作用的观察[J].中华中医药学刊,1998(5): 39-39.

- [2] 王雪,赵立春,廖夏云,等.辣木籽化学成分的不同提取方法及药理研究概况[J].中国民族民间医药,2019,28(4): 52-60.
- [3] 虎威真,陶宁萍,许长华.基于食药价值的辣木籽研究进展[J].食品科学,2018(1): 302-309.
- [4] 杜尊众,吴晓琴,余海林,等.辣木籽水提液的提取工艺优化与抗氧化活性研究[J].湖北大学学报(自然科学版),2020,42(1): 84-87.
- [5] KOHEIL M A, HUSSEIN M A, OTHMANS M, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Moringa peregrina* Seeds[J]. Free Radicals and Antioxidants, 2011, 1(2): 49-61.
- [6] DIALLO A, EKLUGADEG K, MOBIOT, et al. Protective effect of *Moringa oleifera* Lam. and *lannea kerstingii* extracts against cadmium and ethanol-induced lipid peroxidation[J]. Journal of Pharmacology and Toxicology, 2009, 4(4): 160-166.

(下转第 158 页)

- ing; A review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2010, 47(3): 247-257.
- [8] 孙雪梅, 宗渊, 杨世鹏, 等. 菊芋果聚糖合成酶基因 1-SST 启动子克隆与活性研究[J]. 西南农业学报, 2020, 33(2): 241-245.
- [9] 张学英, 黄忠意, 章发盛, 等. 两种检测还原糖方法的比较[J]. 食品与机械, 2017, 33(2): 66-69.
- [10] 周瑞铮. 低聚果糖和菊粉对发酵香肠风味的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2018: 5-10.
- [11] 朱程旭. 木糖水解液糖酸色谱分离技术基础研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019: 24-25.
- [12] 董青. EPA-EE 和 DHA-EE 的分离工艺研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 8-20.
- [13] 余书奇, 包晓青, 梁明在, 等. 超临界流体萃取与模拟移动床色谱纯化灵芝三萜类化合物[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 286-292.
- [14] 刘斌杰. 模拟移动床分离红霉素 A 和红霉素 C 的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2018: 6-20.
- [15] 王绍艳, 魏伯峰, 丛景香, 等. 模拟移动床色谱分离甘草苷和甘草素[J]. 精细化工, 2017, 34(11): 1 260-1 264.
- [16] LEE J W, LEE C H, KEE Y M. Sensitivity analysis of amino acids in simulated moving bed chromatography[J]. Biotechnology & Bioprocess Engineering, 2006, 11(2): 110-115.
- [17] SONG S M, PARK M B, KIM I H. Three-zone simulated moving-bed (SMB) for separation of cytosine and guanine[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2012, 29(7): 952-958.
- [18] 刘彬. 菊芋菊糖的制备及其降解生产低聚果糖[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 21-29.
- [19] 孙蕊, 贾鹏禹, 谭策, 等. 成品菊粉中果聚糖含量的液相色谱快速分析方法[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2015, 27(3): 71-74.
- [20] 李良玉, 李洪飞, 王学群, 等. 模拟移动床分离高纯果糖的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 302-304.
- [21] 李良玉, 宋大巍, 孙蕊, 等. 模拟移动色谱法纯化葡萄糖母液的技术研究[J]. 核农学报, 2015, 29(10): 1 970-1 978.
- [22] 李良玉, 孙蕊, 李朝阳, 等. 顺序式模拟移动色谱纯化木糖酵母液[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(10): 1 789-1 793.
- [23] LU Jian-gang. Numerical simulation of asynchronous simulated moving bed chromatography[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2004, 12(3): 415-420.
- [24] 沈圆辉. 对二甲苯模拟移动床分离过程的模拟与优化[D]. 天津: 天津大学, 2016: 10-20.
- [25] MAILEN Fernandez, MANUEL Mirp, HILDA M González, et al. Modulation of mobile phase composition in flow-injection/sequential-injection chromatography exploiting multisyringe flow analysis[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008, 391(3): 817-825.
- [26] 张银. 菊粉的分离纯化[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2016: 47-67.
- (上接第 152 页)
- [7] 黄颖, 谭书明, 陈小敏, 等. 辣木籽多酚提取工艺优化及解酒功效研究[J]. 食品科技, 2019, 44(6): 248-255.
- [8] DAVIES A G, MCINTIRE S L. Using *C. elegans* to screen for targets of ethanol and behavior-altering drugs[J]. Biological Procedures Online, 2004, 6: 113-119.
- [9] STIERNAGLE T. Maintenance of *C. elegans*[J]. Wormbook the Online Review of *C. elegans* Biology, 2006, DOI: 10.1895/wormbook.1.101.1.
- [10] WU Zhong-qin, LI Ke, MA Jin-kui, et al. Effects of ethanol intake on anti-oxidant responses and the lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. CyTA-Journal of Food, 2019, 17(1): 288-296.
- [11] 许云, 阮秦莉, 纪蕾蕾, 等. 茺花素对模式生物秀丽隐杆线虫的毒性作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(5): 414-421.
- [12] 曾敏, 魏焘, 李柯, 等. 蓝莓果酒对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 食品研究与开发, 2016(11): 14-19.
- [13] 王晗, 米生权, 孙雅焯, 等. 壳寡糖对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 229-233.
- [14] DAVIES A G, PIERCE-SHIMOMUR A J T, KIM H, et al. A central role of the BK potassium channel in behavioral responses to ethanol in *C. elegans*[J]. Cell, 2003, 115(6): 655-666.
- [15] ALAIMO J T, DAVIS S J, SONG S S, et al. Ethanol metabolism and osmolarity modify behavioral responses to ethanol in *C. elegans*[J]. Alcoholism Clinical & Experimental Research, 2012, 36(11): 1 840-1 850.
- [16] 刘冰, 王永明, 徐蓉, 等. 辣木籽对大鼠糖尿病脑病的神经保护作用[J]. 长春中医药大学学报, 2010(2): 17-18.
- [17] SOUSA A J S, SOUZA P F N, GIFONI J M, et al. Scanning electron microscopy reveals deleterious effects of *Moringa oleifera* seed exuded proteins on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* eggs[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 154: 1 237-1 244.
- [18] 谷婧, 田利军. 钙调神经磷酸酶在运动中的作用及调节[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2011, 27(1): 55-57.
- [19] 陈玉艳, 胡长志, 崔汝强. 线虫乙酰胆碱酯酶基因研究进展[J]. 生物灾害科学, 2015, 38(4): 284-289.
- [20] DVIR H, SILMAN I, HAREL M, et al. Acetylcholinesterase: From 3D structure to function[J]. Chemico Biological Interactions, 2010, 187(1/2/3): 10-22.
- [21] 贾明月. 大鼠酒精中毒后大脑皮质、海马、小脑的病理学改变, caspase-3、CaN 的异常表达及离子的变化[D]. 长春: 吉林大学, 2011: 21-23.
- [22] 张梦妍, 彭彦卿, 党好, 等. 两种白酒对小鼠海马乙酞胆碱酯酶活性和纹状体单胺类神经递质含量的影响[J]. 现代预防医学, 2011, 38(12): 2 339-2 341.