

# 黑果枸杞花青素对 $A\beta_{42}$ 致痴呆模型大鼠记忆力及抗氧化活性研究

武雪玲<sup>1</sup>, 李筱筱<sup>1</sup>, 贾世亮<sup>1</sup>, 高兆兰<sup>1</sup>, 鲁政<sup>1</sup>, 戴雪伶<sup>2</sup>, 孙雅焯<sup>1,2</sup>

(1. 北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

(2. 功能食品科学技术研究院, 北京 100191)

**摘要:** 采用双侧海马 CA1 区注射  $A\beta_{42}$  构建阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)动物模型, 通过穿梭箱被动回避记录行为学数据; 以大鼠血清和脑组织中的总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)活力及还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)和蛋白质羰基(PC)含量作为评价指标, 分析黑果枸杞花青素(OPC)样品对 AD 模型大鼠记忆力以及体内抗氧化活性的影响。结果表明, 模型组动物的记忆能力显著下降, 而黑果枸杞花青素组可改善 AD 模型大鼠的记忆损伤; 同时, 发现灌胃剂量为 80 mg/kg 的黑果枸杞花青素组能显著提高 AD 大鼠血清和脑组织中 T-SOD、CAT 活力和 GSH 含量, 并降低 MDA 和蛋白质羰基含量水平。综合上述结果可知, 本研究所述黑果枸杞花青素具有良好的增强体内抗氧化活性和提高 AD 大鼠记忆力的作用, 并具有预防 AD 的潜在功效。

**关键词:** 黑果枸杞花青素;  $A\beta_{42}$ ; 阿尔茨海默症; 抗氧化; 记忆力

文章编号: 1673-9078(2017)3-29-34

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.005

## Memory Enhancing and Antioxidant Activities of *Lycium ruthenicum*

## Murray Anthocyanin Extracts in an $A\beta_{42}$ -Induced Rat Model of Dementia

WU Xue-ling<sup>1</sup>, LI Xiao-xiao<sup>1</sup>, JIA Shi-liang<sup>1</sup>, GAO Zhao-lan<sup>1</sup>, LU Zheng<sup>1</sup>, DAI Xue-ling<sup>2</sup>, SUN Ya-xuan<sup>1,2</sup>

(1. Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

(2. Research Institute of Science and Technology of Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

**Abstract:** Amyloid beta-protein 1-42 ( $A\beta_{42}$ ) was injected bilaterally into the hippocampal CA1 area of rats to produce an animal model of Alzheimer's disease (AD), and animal behavior was assessed using the passive-avoidance test in a shuttle box. The activities of total superoxide dismutase (T-SOD) and catalase (CAT), and the contents of glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), and protein carbonyl (PC) in serum and brain tissues were used as evaluation indicators to investigate the effect of *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanin extracts on the *in vivo* antioxidant activity and memory function of AD model rats. The results showed that the memory capacity of the model group was significantly decreased, while the memory impairment of rats administered *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanin extracts was alleviated. Additionally, the activities of T-SOD and CAT, and the content of GSH in serum and brain tissues were significantly enhanced, whereas MDA and PC contents were decreased in the group that received 80 mg/kg *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanin extracts. Thus, *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanin extracts could enhance memory capacity and antioxidant activities of AD model rats, and had a potential preventive effect against AD.

**Key words:** *Lycium ruthenicum* murray anthocyanin extracts; amyloid beta-protein 1-42; Alzheimer's disease; antioxidant; memory

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是老年痴呆中最常见的一种, 且以记忆力衰退、认知功能障碍、人格异常为临床特征的慢性中枢性神经系统退行性疾病

收稿日期: 2016-03-31

基金项目: 北京市教委面上项目(SQKM201411417014); 北京联合大学校级科研项目(ZK70201402)

作者简介: 武雪玲(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物活性物质的生理功效研究

通讯作者: 孙雅焯(1970-), 女, 教授, 研究方向: 分子生物学

病<sup>[1,2]</sup>。其病理特征表现: 细胞内异常磷酸化的 tau 蛋白聚集形成神经纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFTs); 脑皮层和海马区神经元细胞的丢失; 纤维状淀粉样  $\beta$  蛋白多肽(amyloid- $\beta$ ,  $A\beta$ )在神经组织中沉积形成老年斑(Senile Plaque, SP)等<sup>[3,4]</sup>。其中,  $A\beta$  在脑内沉积是 AD 病理改变的中心环节, 可引发一系列病理过程, 这些病理过程又进一步促进  $A\beta$  沉积, 从而形成一种级联式放大效应<sup>[5,6]</sup>。在 AD 的发病中, 细胞外  $A\beta$  可诱导蛋白质、脂质以及核酸的过氧化, 产生

大量自由基,而氧化应激又会促进可溶性  $A\beta$  转换为不溶性  $A\beta$ ,同时产生的氧自由基又可导致内质网蛋白折叠功能受损并使受损蛋白的清除能力下降,进而促进 SP 的形成<sup>[7]</sup>。

根据最新研究报道,2015 年全世界 AD 患者将达到 4680 万,其中 58% 的患者多分布在中低收入国家,并推测 2050 年 AD 患者将达到 1.3 亿,而分布在中低收入国家的比例也将占到 68%<sup>[8]</sup>。随着世界老龄化的不断加快,AD 已严重影响了老年人的生活质量和健康,所以对 AD 的治疗和预防也成了较为棘手的待解决问题,但目前临床上还未有能将其彻底治愈的特效药物。因此,结合我国丰富的天然产物资源,探寻对 AD 有良好治疗效果且副作用低的活性物质,将会对 AD 的治疗与防治起到积极的作用。

黑果枸杞花青素是从黑果枸杞果实中提取的一种紫红色素,也称花色素或花色苷,属于生物类黄酮物质。它色泽鲜艳自然,无特殊气味,是一种珍稀的天然食用花色苷类色素资源<sup>[9]</sup>。花青素是一类广泛存在于植物中的水溶性色素,且具有抗氧化、抗肿瘤、延缓衰老<sup>[10]</sup>、抗动脉粥样硬化及降血脂、增强非特异性免疫和改善记忆力<sup>[11]</sup>等多种生理活性功能,尤其是它的抗氧化活性,其抗氧化和清除人体自由基的能力约是  $V_E$  的 50 倍、 $V_C$  的 20 倍左右<sup>[12]</sup>。本研究前期已对黑果枸杞花青素的含量和组分进行了探究。检测出其花青素含量约 115.06 mg/g,并初步鉴定出四种化合物结构:牵牛花色素-3,5-二葡萄糖苷、天竺葵色素类衍生物、牵牛花色素-3-芸香糖苷-5-葡萄糖苷和矢车菊色素类衍生物,其中牵牛花色素衍生物含量最多。本研究采用双侧海马 CA1 区微注  $A\beta_{42}$  建立 AD 痴呆大鼠模型,并借助其特有生物活性,想进一步探究黑果枸杞花青素对  $A\beta_{42}$  诱导 AD 痴呆大鼠模型的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验样品与试剂

黑果枸杞花青素由北京联大大学应用文理学院食品系实验室提供;总超氧化物歧化酶(T-SOD)测定试剂盒、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒、还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒和蛋白质羰基(PC)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; $A\beta_{42}$  购自吉尔生化(上海)有限公司;其他试剂均为分析纯级。

#### 1.1.2 实验动物

6 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠,体重 180~200 g,购

自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2012-0001]。饲养条件:室温  $22\pm 1$  °C,相对湿度 50%~60%,交替 12 h 光照/黑暗条件下饲养。

### 1.2 主要仪器设备

奥豪斯 AR1530 精密电子天平;Eppendorf 5804R 台式冷冻离心机;RephiLe 超纯水系统;DK-98-IIA 电热恒温水浴锅;上海美谱达分光光度计;瑞沃德脑立体定位仪;Panlap 穿梭箱被动回避装置。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 动物分组及给药

SD 雄性大鼠于 SPF 动物房使用标准饲料和饮用水自由饮食一周后。将 48 只 SD 雄性大鼠随机分成 6 组,每组 8 只,分别是假手术对照组(简称 Sham 组,灌胃蒸馏水)模型组(简称 Model 组,灌胃蒸馏水),阳性组(简称 Huperzine-A 组,灌胃石杉碱甲阳性药,0.2 mg/kg),黑果枸杞花青素高剂量组(简称 OPC-H 组,灌胃 80 mg/kg),黑果枸杞花青素中剂量组(简称 POC-M 组,灌胃 40 mg/kg),黑果枸杞花青素低剂量组(简称 OPC-L 组,灌胃 20 mg/kg),每天给药一次。

#### 1.3.2 手术造模

实验大鼠经腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 ( $0.35\times 10^{-2}$  mL/g 体重)麻醉后,固定于脑立体定位仪上,纵向切开顶部皮肤,分离皮下组织,以 5%  $H_2O_2$  适当处理颅骨使骨缝清晰,并参照 Paxinos G 等<sup>[13]</sup>的《大鼠脑立体定位图谱》,确定大鼠海马 CA1 区立体定位坐标为前囟后 3.3 mm、中线旁 2.0 mm 及颅骨表面下 3.4 mm。以骨钻打开颅骨后,用微量进样器自脑表面垂直进针进行注射  $A\beta_{42}$  (已配好的浓度为 2.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的寡聚体),总注射体积 10  $\mu\text{L}$ ,双侧各注射 5  $\mu\text{L}$ ,10 min 内注射完毕,留针 5 min 使溶液充分弥散。注射后缝合皮肤,并给予青霉素钠盐 8 万单位肌注即每只老鼠注射 0.5 mL。假手术组:同样的方法对假手术组大鼠双侧海马 CA1 区相同的坐标位点注射等体积的无菌生理盐水。

#### 1.3.3 明暗穿梭被动回避

手术后第一天开始给药,连续给药 14 d,第 12 d 的时候,将大鼠头朝室壁放入明室,明暗两室之间的门洞敞开,让动物在两室内自由活动 3 min。第 13 d 进行明暗穿梭箱被动回避实验的训练,将大鼠头朝室壁放入明室,当大鼠四肢完全进入暗室后,门洞立即关闭,给予一次电刺激(持续 2 s),第 14 d,开始进行被动回避的测试(训练 24 h 以后),不给予足底电刺激,记录每只大鼠 5 min 内第一次进入暗室的时间

(潜伏期, s)和错误次数。不进入暗箱的大鼠, 潜伏期记为 300 s。

### 1.3.4 大鼠样本的采集

手术后第 15 d, 大鼠股动脉放血处死, 收集血液, 4 °C 沉降 40 min, 3000 r/min 离心 10 min, 收集上清用于血清 T-SOD、MDA、CAT、GSH、蛋白质羧基以及蛋白含量的测定。同时, 迅速将大鼠头部切断, 头部置于冰块上, 迅速取脑后, 用冰冷的生理盐水洗涤并匀浆制备成 10% 大脑组织匀浆液。4 °C、2500 r/min 离心 10 min, 取上清用于大脑氧化指标和蛋白含量测定。

### 1.3.5 测定方法

T-SOD 活性采用羟胺法测定; MDA 含量采用 TBA 法测定; CAT 活性采用可见光法测定; GSH 含量采用分光光度法; PC 含量采用紫外比色法测定; 血清蛋白浓度以及脑组织匀浆蛋白浓度的测定都采用考马斯亮蓝方法进行测定。所有检测试剂的配置和检测步骤, 均按照南京建成生物工程研究所相对应的试剂盒说明书进行操作。

### 1.4 统计学分析

采 SPSS 12.0 统计软件进行数据的分析处理, 实验数据均以  $x \pm s$  进行表示, 并采单因素方差分析进行组与组之间的差异显著性分析,  $p < 0.05$  表示具有统计学差异显著(用\*或#表示),  $p < 0.01$  表示具有统计学差异极显著(用\*\*或###表示), 同时采用 SigmaPlot 10.0 软件进行图像处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠行为学-

被动回避的影响

表 1 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠学习记忆行为的影响

Table 1 Effect of *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanins on learning and memory in an  $A\beta_{42}$ -induced rat model of AD

Group	第 14 d 测试潜伏期/s	错误次数
Model	163.50±93.78 <sup>#</sup>	0.75±0.46 <sup>#</sup>
Huperzine-A	300.00±0.00*	0.00±0.00*
Sham	300.00±0.00*	0.00±0.00
OPC-H	300.00±0.00*	0.00±0.00*
OPC-M	298.63±3.89*	0.13±0.35
OPC-L	295.13±13.79	0.13±0.35

注: 与 M (Model)组比较, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ; 与假手术 (Sham)组比较, <sup>#</sup> $p < 0.05$ , <sup>###</sup> $p < 0.01$ 。

黑果枸杞花青素对 AD 大鼠穿梭箱被动回避反应的记忆保持能力的作用如表 1 所示, 结果显示, 在第 14 d 训练潜伏期(s)中, 与假手术(Sham)组相比, 模型 (Model)组潜伏期明显缩短( $p < 0.05$ ), 错误次数增加( $p < 0.05$ ); 与模型 (Model)组相比, 阳性对照 (Huperzine-A)组潜伏期具有显著性增加( $p < 0.05$ ), 错误次数减少( $p < 0.05$ ); 此外, 黑果枸杞花青素样品 (OPC-H、OPC-M 和 OPC-L)组与 Model 组相比, OPC-H、OPC-M 和 OPC-L 三组潜伏期均有所增加, 其中 OPC-H 和 OPC-M 组的潜伏期增加具有显著性差异( $p < 0.05$ ), 且 OPC-H 组错误次数明显降低( $p < 0.05$ )。

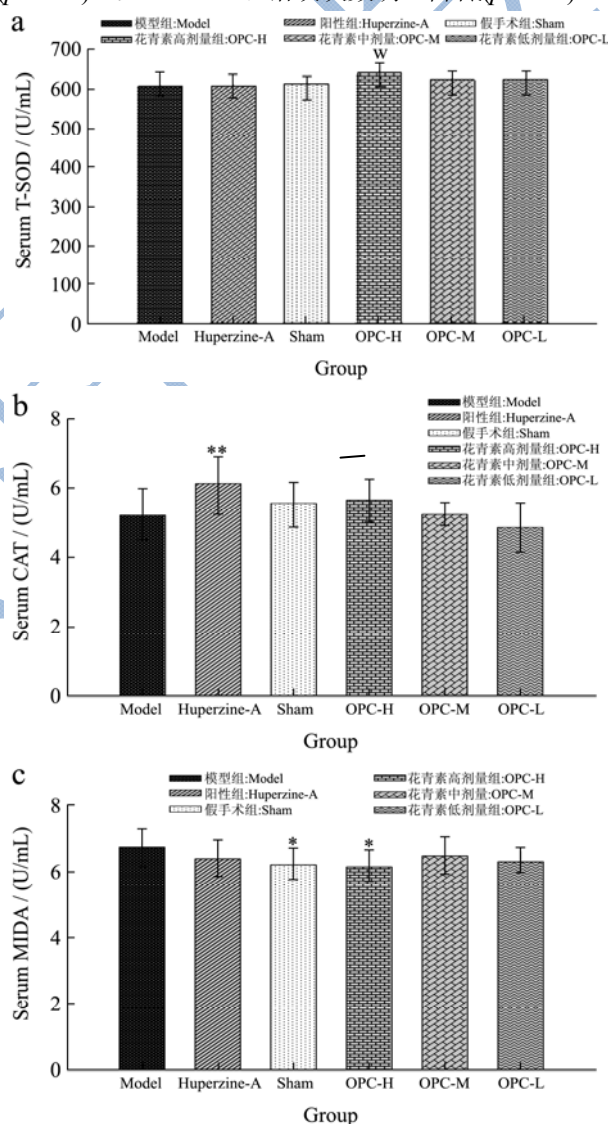


图 1 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠血清中 T-SOD、CAT 活力及 MDA 含量的影响

Fig.1 Effect of *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanins on T-SOD and CAT activities and MDA content in the serum of AD model rats

注: 与模型(M)组比较, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ; 与假手术(Sham)组比较, <sup>#</sup> $p < 0.05$ , <sup>###</sup> $p < 0.01$ 。

## 2.2 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠血清中 T-SOD、CAT 活力及 MDA 含量的影响

不同处理组大鼠血清中 T-SOD、CAT 活力及 MDA 含量比较结果见图 1, 其中 a 图是血清 T-SOD 活力的组间比较, b 图是血清 CAT 活力的组间比较, c 图是血清 MDA 含量的组间比较。结果显示 AD 大鼠血清中, 与 Sham 组相比, Model 组 T-SOD 和 CAT 活力略有下降, MDA 含量显著上升( $p<0.05$ ), 具有统计学差异显著; 与 Model 组相比, Huperzine-A 组 T-SOD 活力无明显变化, CAT 活力升高( $p<0.01$ ), MDA 含量略有下降。此外, 黑果枸杞花青素样品 (OPC-H、OPC-M 和 OPC-L) 组与 Model 组相比, OPC-H 样品组 T-SOD 活力显著升高 ( $p<0.05$ ), CAT 活力略有升高, MDA 含量显著下降 ( $p<0.05$ ); OPC-M 和 OPC-L 样品组 T-SOD 和 CAT 活力虽有略升高, 但无显著性差异, MDA 含量虽有所下降, 但也无显著性差异。

## 2.3 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠大脑组织中 T-SOD、CAT 活力及 GSH 含量的影响

不同处理组大鼠大脑组织中 T-SOD、CAT 活力及 GSH 含量比较结果见图 2, 其中 a 图是脑组织 T-SOD 活力的组间比较, b 图是脑组织 CAT 活力的组间比较, c 图是脑组织 GSH 含量的组间比较。结果显示 AD 大鼠大脑组织中, 与 Sham 组相比, Model 组 T-SOD 活力略有下降, CAT 活力极显著下降( $p<0.01$ ), GSH 含量极显著降低( $p<0.01$ ); 与 Model 组相比, Huperzine-A 组 T-SOD 活力无明显变化, CAT 活力极显著升高 ( $p<0.01$ ), GSH 含量极显著增加 ( $p<0.01$ )。此外, OPC-H、OPC-M 和 OPC-L 组与 Model 组相比, OPC-H 样品组 T-SOD 活力显著升高 ( $p<0.05$ ), CAT 活力极显著升高( $p<0.01$ ), GSH 含量极显著性增加( $p<0.01$ ); OPC-M 样品组 T-SOD 活力虽有所升高, 但无显著性差异, CAT 活力极显著升高 ( $p<0.01$ ), GSH 含量极显著性增加 ( $p<0.01$ ), 具有统计学差异极显著性; OPC-L 样品组 T-SOD 和 CAT 活力变化不明显, GSH 含量极显著性增加 ( $p<0.01$ )。

## 2.4 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠大脑组织中 MDA 和蛋白质羰基含量的影响

不同处理组大鼠大脑组织中 MDA 和蛋白质羰基含量比较结果见图 3, 其中 a 图是脑组织 MDA 含量

的组间比较, b 图是脑组织蛋白质羰基含量的组间比较。结果显示 AD 大鼠大脑组织中, 与 Sham 组相比, Model 组 MDA 含量显著下降 ( $p<0.05$ ), 蛋白质羰基含量极显著降低 ( $p<0.01$ ); 与 Model 组相比, Huperzine-A 组 MDA 含量显著下降 ( $p<0.05$ ), 蛋白质羰基含量略有降低。此外, OPC-H、OPC-M 和 OPC-L 样品组与 Model 组相比, OPC-H 组 MDA 含量极显著下降 ( $p<0.05$ ), 蛋白质羰基含量极显著降低 ( $p<0.01$ ), OPC-M 和 OPC-L 样品组 MDA 和蛋白质羰基含量均极显著下降 ( $p<0.01$ )。

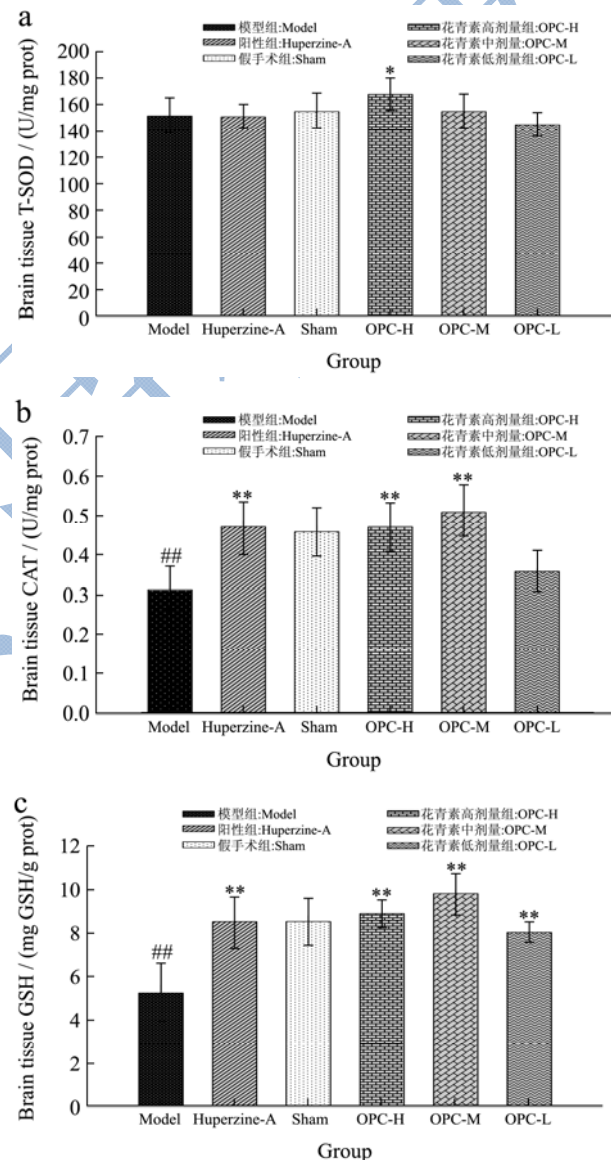


图2 黑果枸杞花青素对 AD 痴呆大鼠脑组织中 T-SOD、CAT 活力及 GSH 含量的影响

Fig.2 Effect of *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanins on T-SOD and CAT activities and GSH content in the brain of AD model rats

注: 与模型(M)组比较, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ ; 与假手术(Sham)组比较, # $p<0.05$ , ## $p<0.01$ 。

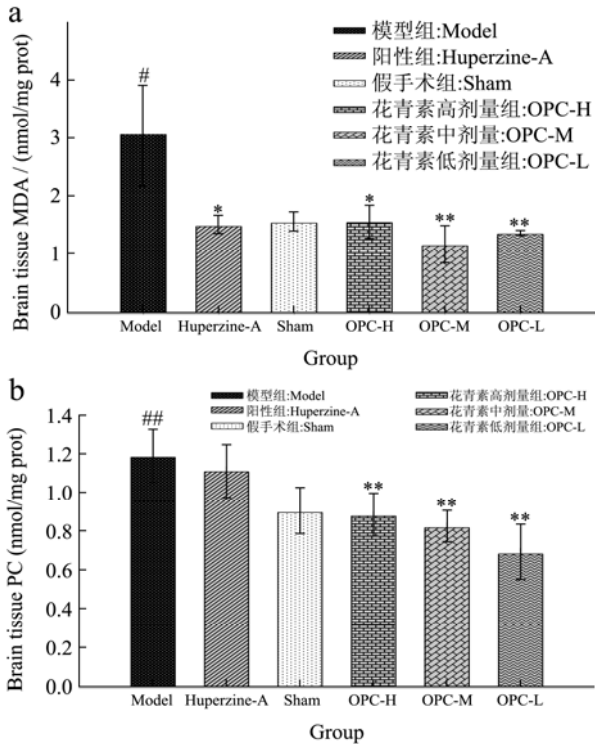


图3 黑果枸杞花青素对AD痴呆大鼠脑组织中MDA和PC含量的影响

Fig.3 Effect of *Lycium ruthenicum* Murray anthocyanins on the MDA and PC contents in the brain of AD model rats

注:与模型(M)组比较, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ;与假手术(Sham)组比较, # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$ 。

### 2.5 模型分析与讨论

AD 是以记忆力衰退、认知功能障碍和人格异常为临床特征的慢性中枢性神经系统退行性疾病。由于AD 的发病机制十分复杂,致使目前还缺乏有效的防治措施。众多研究表明,氧化应激参与了AD 的病理过程,并产生大量的氧自由基,而大量自由基不能被及时清除,进一步就会诱导蛋白质、核酸以及脂质的过氧化,致使神经细胞凋亡,进而导致或加重AD 的产生<sup>[7]</sup>。神经细胞的凋亡和缺失是导致学习和记忆障碍的主要因素,穿梭箱被动回避反应是一种典型的测定学习记忆能力的一种动物模型,通过动物进入暗室潜伏期的长短和错误次数的多少来观察模型动物的记忆力情况。另外, CAT、T-SOD 和 GSH 是机体内清除自由基的关键酶,它们可以保护机体不受自由基的损伤,对它们的检测可以反映机体抗氧化能力的强弱;而 MDA 和蛋白羰基是自由基攻击机体产生的终产物,检测 MDA 和蛋白羰基的含量可反映机体蛋白质和脂质的过氧化程度。

在本研究中,采用双侧海马 CA1 区微注射  $A\beta_{42}$  构建 AD 痴呆动物模型来评估黑果枸杞花青素样品的

抗氧化活性。结果如表 1 和图 1~图 3 所示,综合上述共性分析结果可知,与 Sham 组比较, Model 组被动回避测试潜伏期明显降低,错误次数明显增加,具有统计学显著性差异,说明双侧海马 CA1 区微注射  $A\beta_{42}$  构建的动物模型造成大鼠对被动回避记忆能力造成损害;与 Model 组相比, OPC-H、OPC-M 和 OPC-L 三组潜伏期均有所升高,错误次数也明显减少,其中 OPC-H 和 OPC-M 组的升高具有统计学差异极显著性,说明黑果枸杞花青素在一定程度上可以改善 AD 痴呆动物模型所致的被动回避记忆能力的下降。另外,与 Sham 组相比,模型组大鼠血清和大脑组织中 T-SOD、CAT 活力和 GSH 含量均显著性下降,且 MDA 和蛋白质羰基含量均明显升高;与 Model 组比较, Huperzine-A 组血清和脑组织中 T-SOD 活力虽无明显变化,但 CAT 活力和 GSH 含量均有所升高,MDA 和蛋白质羰基含量也均有下降。结合被动回避的行为学检测和抗氧化指标测定的结果分析表明本研究 AD 痴呆动物模型构建是可行的。

在此 AD 痴呆动物模型基础上,实验考察了不同剂量黑果枸杞花青素样品灌胃处理的大鼠血清和脑组织中的抗氧化能力。与模型组相比,综合上述共性分析结果可知, AH 组血清和脑组织中 T-SOD、CAT 活力和 GSH 含量均有明显升高,MDA 和蛋白羰基含量均显著下降。黑果枸杞花青素可以增强大鼠血清和脑组织中抗氧化酶的活性,并降低 MDA 和蛋白羰基含量,且灌胃剂量为 80 mg/kg 时显示出更高的抗氧化作用潜力。

### 3 结论

该研究采用双侧海马 CA1 区微注射  $A\beta_{42}$  构建 AD 痴呆动物模型,通过穿梭箱被动回避记录行为学数据,观测黑果枸杞花青素对  $A\beta_{42}$  构建 AD 痴呆动物模型所致记忆损伤的保护作用,并检测大鼠血清和大脑组织中 T-SOD、CAT 力以及 GSH、MDA 和蛋白质羰基含量作为评价指标,较为全面的分析了黑果枸杞花青素样品的体内抗氧化活性。从实验研究结果可以得出如下结论:黑果枸杞花青素能在一定程度上改善 AD 模型大鼠的记忆损伤,并能提高 AD 大鼠血清和脑组织中抗氧化酶(T-SOD, CAT)的活力和 GSH 含量,同时降低 MDA 和蛋白质羰基含量水平。因此,本实验黑果枸杞花青素具有良好的抗氧化及预防 AD 的潜在功效。

### 参考文献

[1] Peri A, Serio M. Neuroprotective effects of the Alzheimer's

- disease-related gene seladin-1 [J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2008, 41(5): 251-261
- [2] Querfurth H W, Laferla F M. Alzheimer's disease [J]. New England Journal of Medicine, 2010, 362(362): 329-344
- [3] Pamplona F A, Pandolfo P, Duarte F S, et al. Altered emotionality leads to increased pain tolerance in amyloid  $\beta$  ( $A\beta_{1-40}$ ) peptide-treated mice [J]. Behavioural Brain Research, 2010, 212(1): 96-102
- [4] Huang H C, Jiang Z F. Accumulated amyloid-beta peptide and hyperphosphorylated tau protein: relationship and links in Alzheimer's disease [J]. Journal of Alzheimers Disease, 2009, 16(1): 15-27
- [5] Hardy J, Selkoe D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics [J]. Science, 2002, 297: 353-356
- [6] Karran E, Mercken M, Strooper B D. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics [J]. Nat. Rev. Drug Discov., 2011, 10: 698-712
- [7] Reddy P H, Beal M F. Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease [J]. Trends Mol. Med., 2008, 14(2): 45-53
- [8] Prince M, Wimo A, Guerchet M, et al. World Alzheimer report 2015. the global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends [R]. Matthew Prina, 2015-9-7
- [9] Giusti M M, Wrolstad R E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems [J]. Biochemical Engineering Journal, 2003, 14(3): 217-225
- [10] Abdenour B, Charles R. Innovative anthocyanins formulation protects neuronal-like cells against oxidative stress-induced damage: Pharmacotherapeutic application for Alzheimer's disease [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2014, 75 (Suppl 1): S45
- [11] Shukitthale B, Cheng V, Joseph J A. Effects of blackberries on motor and cognitive function in aged rats [J]. Nutritional Neuroscience, 2009, 12(12): 135-40
- [12] 徐春明, 庞高阳, 李婷. 花青素的生理活性研究进展 [J]. 中国食品添加剂, 2013, 3: 205-210  
XU Chun-ying, PANG Gao-yang, LI Ting. Progress in the research on physiological activities of anthocyanin [J]. China Food Additives, 2013, 3: 205-210
- [13] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates [M]. Academic Press, 1998