

苜蓿黄酮的研究进展

朱见明, 李娜, 张亚军, 李晓东, 王成章

(河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要:介绍了苜蓿黄酮方面的一些主要研究进展,包括:苜蓿黄酮的分类;苜蓿黄酮的测定方法和提取、分离工艺,主要包括紫外分光光度法、比色法、高效液相色谱等测定方法;超声波辅助、微波辅助提取等提取方法,以及大孔树脂吸附分离方法;苜蓿黄酮的生理活性,尤其是在提高动物的抗氧化、增强机体免疫力和抗癌方面的作用。鉴于苜蓿黄酮有多种生物学活性和多种生理功能,而在其分类、测定方法、提取分离工艺、用途及安全性评价技术方面尚不健全,亟需进一步开展研究。

关键词:苜蓿;黄酮;抗氧化

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2009)09-0156-07

*¹ 紫花苜蓿 *Medicago sativa* 是一种高产优质的多年生豆科牧草,在世界许多国家广泛栽培,也是我国推广应用的主要牧草。在我国,紫花苜蓿主要分布于西北、华北、东北和西南地区,生长期短至4年,长的可达10年以上^[1]。研究表明^[2],紫花苜蓿具有品质好、产草量高、适口性好、营养丰富、易于家畜消化等特点,故有“牧草之王”美誉,而且还有降低胆固醇、防治动脉粥样硬化、防治冠心病、增强机体免疫力、抑制癌细胞生长及改善记忆等多种生物活性功能。紫花苜蓿的药用价值也非常高,据记载^[3],紫花苜蓿具有清热解毒、凉血通淋、益气健脾温肾的功效,临床上对治疗尿频、遗尿、腹泻等症状有疗效。此外,还有降血脂、抗菌、抗肿瘤等作用^[4]。

黄酮(flavonoids)作为苜蓿的生物活性成分之一,在一定剂量范围内对畜禽有明显的促进生长、提高繁殖力和增强机体免疫力等作用^[5];对人体具有抗肿瘤、延缓衰老、增强心血管功能的作用;还有治疗慢性前列腺炎、增强免疫力、调解内分泌系统、护肝、抗过敏、抑菌、抗病毒等功能。为此,就苜蓿黄酮的研究进展及应用现状进行介绍。

1 苜蓿黄酮的分类

苜蓿黄酮属于黄酮类化合物中的一种,多为结晶性固体,少数为无定形粉末。苜蓿属中的黄

酮类约有70余种,来源于紫花苜蓿的有30余种。据报道^[6],苜蓿属植物的黄酮类成分主要有以下几种结构类型:黄酮及其苷类、黄酮醇及其苷类、异黄酮类、异黄酮、查耳酮、二氢黄酮、二氢异黄酮和紫檀炔类等,广义的范围还包括查耳酮、呋酮及茶多酚(儿茶素的结构、性质及作用与类黄酮相似,也可以归于黄酮类化合物)^[7]。苜蓿属中黄酮类成分的母核主要为芹菜素(apigenin)、木樨草素(luteolin)、苜蓿素(tricin)、金圣草黄素(chrysoeriol)、美迪紫檀素(medicarpin)、vestitol、sativanone、laricytrine、larivitrin、山奈酚(kaempferol)、槲皮素(querctetin)、liquiritigenin、杨梅黄素(myricetin)、芦丁(rutin)、染料木黄酮(genistein)、刺芒柄花黄素(formononetin)和大豆素(daidzein)等,其中,芹菜素、木樨草素、苜蓿素、金圣草黄素、刺芒柄花黄素、槲皮素、染料木黄酮和美迪紫檀素等母核的结构均存在于紫花苜蓿中,并以芹菜素、木樨草素、苜蓿素最为常见^[8]。

2 苜蓿黄酮的测定、提取、分离工艺

2.1 苜蓿中黄酮含量的差异 不同苜蓿品种

收稿日期:2008-10-07

作者简介:朱见明(1985-),男,河南周口人,在读硕士生,主要从事牧草营养研究。

E-mail: zhujianming311@163.com

通信作者:王成章 E-mail: wangchengzhang@263.net

黄酮含量有差异。薄亚光等^[9]对6个紫花苜蓿品种茎、叶中的总黄酮进行了提取和测定,结果表明,各品种、株系间总黄酮含量有差异,平均总黄酮含量最大的是牧歌三叶(*Ameri Graze Trifoliolate*)品种,含量为7.08 mg/g,最小的是全能三叶(*Total Trifoliolate*)品种,含量为6.32 mg/g。高微微^[10]对不同地区来源的苜蓿进行测定的结果表明,栽培紫花苜蓿总黄酮明显低于野生紫花苜蓿,黄花苜蓿和野生紫花苜蓿总黄酮含量较高,花苜蓿在4个样品中居中;苜蓿的不同生育时期黄酮含量也有较大的差异。通过对45个紫花苜蓿栽培品种研究得出,苜蓿茎叶中黄酮含量在各生育期的变化趋势有差异,叶片中黄酮含量随着植株由营养生长转为生殖生长逐渐升高,在始花期达到最高,随后逐渐下降;而茎中黄酮含量在植株生长初期最高,以后随着木质化程度的增加逐渐下降。故要收获较多量的苜蓿黄酮,宜在苜蓿营养生长期至开花期刈割并提取。同一品种不同季节黄酮含量也有差异,夏季植株中黄酮含量高于春季,故在夏季收获提取为宜。对不同生长年限的苜蓿来说,要获得较高的黄酮成分,4年应是适宜的栽培年限。同一植株,叶片的黄酮含量高于茎,陈寒青等^[11]通过HPLC法对红花苜蓿不同部位(花、茎和叶)中4种主要异黄酮含量进行测定,结果表明:以占干物质计,4种异黄酮总量叶中含量最高(0.856%),茎次之(0.403%),花中含量较低(0.258%)。

2.2 测定方法 丛媛媛等^[12]利用紫外分光光度法对紫花苜蓿黄酮的含量进行了测定,结果表明,该方法快速重现性好,操作简便,平均加样回收率为96.2%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)仅3.32%,对仪器要求也不高,可作为测定紫花苜蓿黄酮含量的方法之一。此外,比色法、薄层色谱法、高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱联用法、毛细管电泳法、超临界CO₂萃取法和大孔树脂吸附法等也是测定苜蓿黄酮含

量的有效方法。比色法适于测定总黄酮,但不适用于单一成分的测定;高效液相色谱是测定黄酮类化合物的有效方法,它克服了传统定量方法繁琐、费时、分离度欠佳以及气相色谱法(gas chromatography, GC)的拖尾现象或制成相应衍生物操作繁琐等缺点,分离效率高,应用日趋增多;高效液相色谱-质谱联用法为黄酮类化合物的指纹图谱的建立提供了高效准确的方法;毛细管电泳法以高效、快速、进样量少、节省溶剂、重现性好、不易污染等优点,近几年在该类物质的分析中逐渐被接受^[13]。

2.3 提取工艺 关于苜蓿中黄酮类物质提取的相关报道较少,可以参考以下几种较为成熟的黄酮类物质提取工艺,现简单介绍如下。

2.3.1 有机溶剂提取法 这是目前国内外使用最广泛的方法,很容易实现工业化生产。常用的有机溶剂有甲醇、乙醇、丙酮等,高体积分数的醇(如90%~95%)适于提取苷元,体积分数60%左右的醇适于提取苷类。提取次数一般是2~4次,可用冷浸法或加热抽提法提取^[14]。

2.3.2 超声波辅助提取法 该方法的原理是利用超声波的空化作用加速植物有效成分的溶出,并且超声波的次级效应,如机械振动、乳化、扩散、化学效应等也能加速欲提取成分的扩散释放并充分与溶剂混合,利于提取^[15];超声波还具有特殊的生物效应,选择适当的超声参数可以使植物细胞壁间形成较多的小孔,从而增强细胞膜的透性和选择性。此法具有提取时间短、产率高、低温提取有利于有效成分的保护等优点。

2.3.3 微波辅助提取法 近年来,微波辅助提取法广泛应用于植物天然有效成分的提取,是一种很有潜力的新方法。微波法应用于银杏 *Ginkgo biloba*^[16]、柚 *Citrus grandis*^[17]、甘草 *Glycyrrhiza uralensis*^[18]、白芍 *Radix paeoniae*^[19]等植物提取黄酮类化合物,此法不仅节省时间,而且提取效率高,提高了材料的综合利用率。张咏梅等^[20]

应用微波辅助提取技术,分别对影响紫花苜蓿黄酮提取量的乙醇浓度、微波功率、固液比、提取时间和提取次数进行单因素试验研究,并在此基础上对各因素的互作效率进行正交试验,结果显示固液比和乙醇浓度是影响提取量的主要因素,微波功率和其他因素影响较小。其最佳工艺为:体积分数 40% 的乙醇,固液比为 1:30,微波 500 W 功率下作用 60 s,在此工艺条件下,黄酮提取量的理论值为 4.92 mg/g,接近于实际测定值 4.88 mg/g。研究结果也表明,应用微波辅助提取技术可以充分提取紫花苜蓿中的黄酮类物质,并且具有快速、加热均匀、高效、清洁、不产生噪音、不造成污染的特点^[21],其原因可能是被提取的极性分子在微波电磁场所产生的 24.5 亿次/s 超高频率下快速震动,物料分子间相互碰撞、挤压、摩擦,使物料充分并且快速溶解于溶剂,有利于有效成分的浸出^[22-23]。

其他可供参考的提取方法主要有热水提取法、碱性稀醇或碱性水提取法、系统溶剂提取法、超滤法、超临界萃取法、CO₂ 法、酶浸渍萃取法等。超临界萃取法速度快、操作简单、产品无溶剂残留,而超声波辅助提取无需加热,对有效成分具有保护作用,在提取苜蓿黄酮类成分时,可以将二者合理地结合利用,提高效率。

2.4 分离工艺 关于黄酮类化合物的分离纯化方法很多,主要有柱层析法、薄层层析法、纸层析法以及近年来才发展起来的超临界 CO₂ 萃取法和大孔树脂吸附法等^[24]。此外还有铅盐沉淀、硼酸络合、pH 值梯度萃取、溶剂萃取以及近年来应用的高效液相色谱(HPLC)、液滴逆流层析(DCCC)、气相层析、微乳薄层色谱等,但均存在不同程度的缺点而限制了其工业化生产。在此,仅介绍具有良好应用前景的大孔树脂吸附法。

大孔树脂是近 10 年来发展起来的一类有机高分子聚合物吸附剂,它具有物化稳定性高、吸附选择性好、不受无机物存在影响、再生简单、解吸

条件温和、使用周期长、易于构成闭路循环及节省费用等优点,被广泛用于物质的分离纯化。朱宇旌等^[25]采用大孔吸附树脂 HPH480 对苜蓿异黄酮进行纯化,动态吸附试验结果表明,较好的动态吸附条件为:上样液浓度 0.6~1.2 mg/mL,上样液 pH 值为 5,径高比为 1:20,预吸附 4 h,流速 2 mL/min,上样液温度 40 °C,采用体积分数 80% 的乙醇 60 °C 洗脱,流速为 1.0 mL/min,洗脱剂用量为 4 BV(床容积,bed volume),在此条件下得到的苜蓿异黄酮纯度可在 10% 以上,较粗提物可提高 3 倍以上。

3 苜蓿黄酮的生理活性研究

国内外关于苜蓿黄酮的生理活性方面的研究报道较少,有限的文献报道证明苜蓿黄酮有抗氧化、增强机体免疫力等功能。朱宇旌等^[26]的研究结果表明,添加苜蓿黄酮粗提物对猪油具有良好的抗氧化作用,其中以添加 0.2% 抗氧化效果最佳,其效果虽不如丁基化羟基甲苯(butylated hydroxytoluene, BHT)好,但它是一种天然抗氧化剂,不存在诸如 BHT 等化学合成抗氧化剂所存在的累积致癌作用,具有高效性和安全性。王成章等^[27]报道,添加 5% 和 10% 的苜蓿草粉能显著或极显著提高黄河鲤鱼血清和肝胰脏中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活力,同时也能显著或极显著降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,说明苜蓿草粉能有效地提高黄河鲤鱼的抗氧化能力,这可能与紫花苜蓿中含有大量苜蓿黄酮等活性物质有关。黄酮类化合物对抗过氧自由基和抗脂质过氧化作用主要是由于中心吡喃环的 C₂-C₃ 双键和 B 环 C₃、C_{4'} 邻位羟基的存在,甚至与 B 环羟基数目多少也有关^[28-29]。苜蓿黄酮类物质可以通过减少低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的氧化,降低冠心病的患病机率。Hwang 等^[30]报道,绝经后的妇女患冠心病的机率增加,其中 LDL 的

氧化是一个重要原因,在以氧化修饰型 LDL 为指标对雄性兔大动脉的试验研究中发现,紫花苜蓿提取物可以抑制 LDL 的氧化,减少氧化修饰型 LDL 的形成,并且这种抑制能力随着金虎尾樱桃 *Malpighia* spp. 提取物的添加而增加,推测原因是紫花苜蓿提取物中植物性雌激素——黄酮类物质和金虎尾樱桃提取物中维生素 C 的协同作用,黄酮类物质稳定了 LDL 的结构,维生素 C 降低了黄酮发挥作用的浓度阈值^[30]。

苜蓿黄酮可以增强机体的免疫力已被许多研究所证实。吴健全等^[31]报道,苜蓿中的染料木黄酮可以提高辐射小鼠的免疫功能,在 Cs₁₃₇ 射线照射试验中,供给 0.08% 染料木黄酮的小鼠与正常小鼠比较,淋巴细胞增殖指数提高了 86.8%,血清溶血素提高了 90.9%,同时脾脏功能也有很大提高。这可能与染料木黄酮强烈抑制促癌剂 TPA 诱导的多形核细胞及 HL-60 细胞中 H₂O₂ 的形成,并中等强度地抑制 HL-60 细胞中超氧阴离子自由基的产生有关^[32]。近几年的研究结果表明,紫花苜蓿提取物具有良好的抗癌作用,其抗癌作用主要与其含有的黄酮类成分有关。余小平等^[33]用 5 μmol/L 的染料木黄酮处理乳腺癌细胞后,癌细胞中血管内皮生长因子的 mRNA 和蛋白表达水平逐渐下降,表明染料木黄酮能在转录和翻译水平下降低乳腺癌的发病率。Horn 等^[34]研究发现,1995-1998 年旧金山地区甲状腺癌病人中,食用苜蓿芽的人甲状腺癌的发生率较低,推测原因可能是苜蓿芽中含有的刺芒柄花黄素所致。原因可能是刺芒柄花黄素能明显促进植物血凝素(PHA)诱导的甲基-3H 胸腺嘧啶核苷(methyl-3H TdR)参入的淋巴细胞转化^[35]。

苜蓿黄酮中的芹菜素具有一定的抗癌作用。Wang 等^[36]的体外试验研究显示,芹菜素对白血病细胞株 HL-60 具有抑制生长和诱导凋亡的作用。Shenouda 等^[37]在以小鼠子宫细胞为试验对象的竞争性 3H-雌二醇配合体结合(3H-estra-

diol ligand binding)试验中发现,芹菜素可以非常好地抑制前列腺癌细胞 LNcaP 的生长。Yin 等^[38]以浓度 12.5~50.0 μmol/L 的芹菜素进行试验,发现其可抑制甲状腺癌细胞 ARO 的生长,当浓度达 100 μmol/L 可诱导 ARO 细胞凋亡。Smolinski 等^[39]研究表明,在小鼠体内外试验过程中发现芹菜素可抑制细菌内毒素诱导的白细胞介素 IL-16 和肿瘤坏死因子 TNF- α 的产生。Fotsis 等^[40]研究发现,芹菜素可通过抑制肿瘤细胞分泌的促进血管生长的 bFGF(碱性成纤维细胞生长因子)活性减少其对血管内皮细胞的刺激作用。Casagrande 等^[41]报道,芹菜素可以通过抑制黑色素瘤 OCM 细胞 CDK1(细胞周期素依赖性蛋白激酶)的表达,使细胞阻滞于 G2/M 期,从而达到抑制肿瘤细胞生长的效果。

Cai 等^[42-43]在突变型 Apcmin 小鼠 4~18 周龄期间的饮食中添加 0.2% 的苜蓿素,结果患肠癌率降低了 33%,进一步的试验发现苜蓿素可以抑制恶性乳腺癌细胞 MDA-MB-468 的生长。Al-Fayez 等^[44]通过免疫蛋白印迹法和竞争性免疫法的试验,发现 1 μmol/L 的苜蓿素可以抑制环氧化酶 COX-1 与 COX-2 的活性,25 μmol/L 的芹菜素可以下调环氧化酶 COX-2 在人眼角膜上皮细胞(human corneal epithelial cells, HCEC)中的表达水平,并且苜蓿素和芹菜素均可以降低 HCEC 中环氧化酶代谢产物前列腺素 E-2 的水平。苜蓿素还具有改善记忆的功能。许东晖等^[45]在研究苜蓿素对 NIH(national institute of health)系小鼠脑记忆障碍的药理作用时发现,连续喂食苜蓿素 30 d 后的小鼠在 Y 型迷宫、跳台试验、明暗箱试验中表现出较好的学习记忆能力,原因是苜蓿素通过清除自由基,改善了小鼠的记忆功能。

4 利用苜蓿黄酮存在的问题与展望

许多天然植物中都含有黄酮类化合物,由于黄酮类化合物具有多种药理及保健功效,近年来

对黄酮类化合物的研究逐渐增多,但绝大部分研究集中在大豆 *Glycine max* 等植物上,对苜蓿中黄酮类化合物的研究、开发和利用较少。究其原因有以下几点:第一,生产黄酮的原料苜蓿草的品质得不到保证,其黄酮随苜蓿病虫害、刈割期、加工方式、贮藏条件的不同而表现出较大差异,从而影响了黄酮的产出量与质量;第二,尽管有关黄酮提取的方法很多,但绝大多数还局限于实验室的操作阶段,生产成本低,不能用于大规模生产,对苜蓿黄酮的提取远未达到商业化生产的水平;第三,人们不仅关注黄酮类化合物的生理功效,同时也进行了许多关于其安全性方面的研究,体外试验和动物试验发现黄酮类化合物具有毒副作用^[46],限制了苜蓿黄酮的开发利用;第四,虽然黄酮的研究报道较多,但对苜蓿黄酮的研究较少,作用机理在许多方面还不清楚,仅有大量的体外试验数据^[47],对其在动物体内的消化、吸收、转运、代谢、分布及排泄等方面的研究不多^[48],限制了其在饲料工业中的应用;第五,目前,我国对苜蓿的应用主要以干草或草粉的形式作为畜禽饲料,少部分经加工后作为饲料添加剂应用,对苜蓿的基础研究非常薄弱,关于苜蓿次生产物的化学成分和生物活性方面的研究几乎为空白,作为药用的研究就更少。

虽然对苜蓿黄酮的研究还存在上述问题,但随着研究方法和技术的不断提高,特别是这几年发现了有关苜蓿黄酮许多新的种类和生理作用,使其应用前景日益广阔。苜蓿黄酮的研究和应用将有以下几个趋势:第一,加快对苜蓿黄酮提取工艺的研究,进一步采用一些高新技术及先进的生产工艺,如热反应技术、生物技术、微胶囊包埋技术、干燥技术、膜分离技术、超临界萃取技术、超微粉碎技术、电磁技术以及多种技术的组合,从而得到黄酮类化合物最优的提取、分离、纯化方法^[49];第二,苜蓿是大田作物,适宜大规模种植,且产量较高,完全可以通过筛选或育种工作,从现有的苜

蓿品种中筛选或培育出黄酮成分含量较高的品种种植,从而以更低的生成成本实现更高的经济效益;第三,目前,苜蓿浓缩素、苜蓿蛋白粉已被广泛地应用于保健行业,苜蓿作为黄酮类化合物的来源,无论是与中药植物还是大豆相比,都具有资源丰富、价格低廉等优势,完全可以开发苜蓿黄酮系列保健产品与药品,生产含有苜蓿黄酮的日常食品;第四,把苜蓿黄酮产品加入到草业产业链条中,推进草业由简单初级产品生产向精深加工方面转变,延长产业链,提升产业层次,促进生产、科研、加工和销售各环节的产业一体化,发展产业化经营^[50]。随着人们保健意识的增强,具有多种功效的苜蓿黄酮越来越引起人们的关注,苜蓿黄酮的开发利用将有广阔的前景。

参考文献

- [1] 杨玲玲,王成章. 苜蓿产品在食品及饲料工业中的应用[J]. 草业科学,2008,25(3):85-89.
- [2] 王彦华,王成章,史莹华,等. 苜蓿多糖的研究进展[J]. 草业科学,2007,24(4):50-53.
- [3] 马爱华,张俊慧,赵仲坤. 中药苜蓿的作用考证[J]. 时珍国药研究,2000,7(2):652-661.
- [4] 韩雪松,张玉发,吕会刚. 我国苜蓿产业化发展现状与问题[J]. 草业科学,2002,19(2):29-30.
- [5] 彭礼繁,罗光彬,李红梅. 大豆黄酮在动物营养中的研究与应用[J]. 饲料博览,2008(2):31-34.
- [6] 何春年,李展,高微微,等. 苜蓿属植物的黄酮类化学成分研究概况[J]. 中国药学杂志,2006,41(8):565-568.
- [7] 肖坤福,廖晓峰. 黄酮类化合物研究进展及应用[J]. 食品研究与开发,2003,24(4):13-17.
- [8] 徐文燕. 紫花苜蓿化学成分及其黄酮成分影响因子的研究[D]. 北京:中国协和医科大学,2007.
- [9] 薄亚光,贾志宽,韩清芳. 多叶型与三叶型紫花苜蓿地上部总黄酮含量的比较[J]. 西北农业学报,2008,17(4):129-132.
- [10] 高微微. 苜蓿生物活性及影响其黄酮和皂甙成分因素的研究[D]. 北京:中国协和医科大学,2004.

- [11] 陈寒青,金征宇,陶冠军,等. 红车轴草不同部位中异黄酮含量的测定[J]. 食品科学,2004,25(6):150-153.
- [12] 丛媛媛,帕丽达·阿不力孜,赵文惠,等. 紫外分光光度法测定紫花苜蓿黄酮的含量[J]. 时珍国医国药,2006,17(3):363.
- [13] 张岩,曹国杰,张燕,等. 黄酮类化合物的提取以及检测方法的研究进展[J]. 食品研究与开发,2008,29(1):154-158.
- [14] 李巧玲. 黄酮类化合物提取分离工艺的研究进展[J]. 山西食品工业,2003(4):6-7.
- [15] 李莉,刘成梅,田建文,等. 现代提取分析技术在黄酮类化合物中的应用[J]. 江西食品工业,2006(4):42-44.
- [16] 曾里,林龙辉,兰真,等. 微波法从银杏叶中提取黄酮[J]. 食品工业,2003(3):3-5.
- [17] 戴玉锦,卢明,冯玲. 微波法从柚皮中提取黄酮类化合物的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2006(1):121-123.
- [18] 阚微娜,谭天伟. 微波法提取甘草中有效成分的研究[J]. 中草药,2006,37(1):61-64.
- [19] 黄天辉,沈永嘉. 微波辅助提取白芍的工艺研究[J]. 中草药,2006,37(6):878-880.
- [20] 张咏梅,晏石娟,曹致中,等. 微波辅助提取苜蓿黄酮方法的研究[J]. 草地学报,2008,16(1):76-80.
- [21] 陈斌. 葛根有效成分快速检测方法的建立及葛根素分离提纯新工艺研究[D]. 北京:中国农业大学,2001.
- [22] 马卫华. 蜂胶提取技术及主要应用[J]. 养蜂科技,2004(6):25-26.
- [23] 冯年平,郁威. 中药提取分离技术原理与应用[M]. 北京:中国医药科技出版社,2005:171.
- [24] 宋秋华,张磊,梁飞,等. 黄酮类化合物提取和纯化工艺研究进展[J]. 山西化工,2007,27(4):24-27.
- [25] 朱宇旌,张勇,任慧玲,等. 苜蓿异黄酮纯化工艺研究[J]. 食品工业科技,2008(2):182-185,246.
- [26] 朱宇旌,李新华,张勇,等. 苜蓿黄酮抗氧化性研究[J]. 沈阳农业大学学报,2006,37(4):615-618.
- [27] 王成章,何云,史莹华,等. 饲料中添加苜蓿草粉对黄河鲤鱼抗氧化性能及脂质代谢的影响[J]. 草业学报,2008,17(4):141-148.
- [28] Pincemail J, Dupuis M, Nasr C, *et al.* Superoxide anion scavenging effect and SOD activity of Ginkgo biloba extract[J]. *Experientia*, 1989, 45(8):708-712.
- [29] Joyeux M, Lobstein A, Anton R, *et al.* Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Ginkgo biloba and some flavonoids[J]. *Planta Med.*, 1994, 61(2):126-129.
- [30] Hwang J, Hodis H N, Sevanian A. Soy and alfalfa phytoestrogen extracts become potent low-density lipoprotein antioxidants in the presence of acerola cherry extract[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49(1):308-314.
- [31] 吴健全,金宏,许志勤,等. 染料木黄酮对 γ 射线损伤小鼠免疫功能的影响[J]. 解放军预防医学杂志,2005,23(4):245-247.
- [32] Wei H C, Bowen R, Cai Q Y, *et al.* Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein[J]. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.*, 1995, 208:124-130.
- [33] 余小平,糜漫天,朱俊东. 染料木黄酮对MDA-MB-453乳腺癌细胞VEGF表达的影响[J]. 营养学报,2005,27(4):322-325.
- [34] orn-Ross P L, Hoqqatt K J, Lee M M. Phytoestrogens and thyroid cancer risk: the San Francisco Bay Area thyroid cancer study[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2002, 11(1):43-49.
- [35] 张荣庆,韩正康. 异黄酮植物雌激素对小鼠免疫功能的影响[J]. 南京农业大学学报,1993,16(2):64-68.
- [36] Wang I K, Lin-Shiau S Y, Lin J K. Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells[J]. *Eur. J. Cancer.*, 1999, 35(10):1517-1525.
- [37] Shenouda N S, Zhou C, Browning J D, *et al.* Phytoestrogens in common herbs regulate prostate cancer cell growth in vitro[J]. *Nutr. Cancer*, 2004, 49(2):200-208.

- [38] Yin F, Giuliano A E, Van Herle A J. Signal pathways involved in apigenin inhibition of growth and induction of apoptosis of human anaplastic thyroid cancer cells(ARO)[J]. *Anticancer Res.*, 1999, 19(5B):4279-4303.
- [39] Smolinski A T, Pestka J J. Modulation of lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine production in vitro and in vivo by the herbal constituents apigenin(chamomile), ginsenoside Rb(1)(ginseng) and parthenolide(feverfew)[J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2003, 41(10):1381-1390.
- [40] Fotsis T, Pepper M S, Aktas E, *et al.* Flavonoids dietary-derived inhibitors for cell proliferation and in vitro angiogenesis[J]. *Cancer Res.*, 1997, 57(14):2916-2921.
- [41] Casagrande F, Darbon J M. Effect of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1[J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(10):1205-1215.
- [42] Cai H, Hudson E A, Mann P, *et al.* Growth-inhibitory and cell cycle-arresting properties of the rice bran constituent tricetin in human-derived breast cancer cells in vitro and in nude mice in vivo[J]. *Br. J. Cancer*, 2004, 91(7):1364-1371.
- [43] Cai H, Al-Fayez M, Tunstall R G, *et al.* The rice bran constituent tricetin potently inhibits cyclooxygenase enzymes and interferes with intestinal carcinogenesis in ApcMin mice[J]. *Mol. Cancer Ther.*, 2005, 4(9):1287-1292.
- [44] Al-Fayez M, Cai H, Tunstall R, *et al.* Differential modulation of cyclooxygenase-mediated prostaglandin production by the putative cancer chemopreventive flavonoids tricetin, apigenin and quercetin[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 58(6):816-825.
- [45] 许东晖, 梅雪婷, 许实波. 小麦黄素对小鼠脑记忆障碍的药理作用[J]. *中国药理通讯*, 2003, 20(1):81.
- [46] 汪何雅, 赵显峰. 黄酮类化合物的潜在毒性[J]. *卫生研究*, 2007, 36(5):640-642.
- [47] 代永刚. 黄酮类化合物促进氧化作用的研究[J]. *中国食品添加剂*, 2007(1):57, 70-72.
- [48] 谢棒祥, 张敏. 生物类黄酮的生理功能及其应用研究进展[J]. *动物营养学报*, 2003, 15(2):11-15.
- [49] 蔡健, 华景清, 王薇, 等. 黄酮提取工艺研究进展[J]. *淮阴工学院学报*, 2003, 12(5):82-85.
- [50] 刘加文. 中国草业现状及当前的主要任务[J]. *草业科学*, 2008, 25(2):1-5.

The research progress of alfalfa flavonoids

ZHU Jian-ming, LI Na, ZHANG Ya-jun, LI Xiao-dong, WANG Cheng-zhang
(Animal Husbandry and Veterinary Engineering College, Henan Agricultural
University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: This paper introduced research progress of alfalfa flavonoids. It included the classification of alfalfa flavonoids, its measuring methods such as UV spectrophotometry, colorimetry, high-performance liquid chromatography; the measuring methods of flavonoids such as ultrasonic and microwave assisted extraction, and macroporous resin adsorption method; its physiological function and the role of enhancing animal antioxidant, increasing immunity and controlling cancer. Despite of various biological activity and physiological function of alfalfa flavonoids, studies on its classification, measuring methods, extraction and separation processes, usage and safety evaluation technique were not sound and need further study.

Key words: *Medicago sativa*; flavonoids; antioxidant