

紫花苜蓿中黄酮类化学成分及其生物活性研究进展

赵娅敏¹, 马好文², 孟淑娟¹

1. 西北民族大学化工学院, 甘肃 兰州 730000

2. 中国石油天然气股份有限公司石油化工研究院, 甘肃 兰州 730000

摘要: 紫花苜蓿素有“牧草之王”的称号, 具有抗氧化、抗菌、护肝、止痛镇痛、调节内分泌、增强机体免疫力、抑制肿瘤细胞生长及改善记忆力等多种药理活性。对紫花苜蓿中已分离或检测到的黄酮类成分及其生物活性进行综述, 为今后该植物中黄酮类化学成分的研究和开发提供参考。

关键词: 紫花苜蓿; 黄酮类; 雌激素样作用; 抗氧化; 抗肿瘤

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)22-3245-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.027

Research progress on flavonoids of *Medicago sativa* and their pharmacological activities

ZHAO Ya-min¹, MA Hao-wen², MENG Shu-juan¹

1. Institute of Chemical Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730000, China

2. Institute of Petrochemical Research, Petro China Co., Ltd., Lanzhou 730000, China

Key words: *Medicago sativa* Linn.; flavonoids; estrogen-like effects; anti-oxidation; antitumor

豆科苜蓿属植物为多年生草本, 我国有 13 种和 1 个变种。其中, 紫花苜蓿 *Medicago sativa* Linn. 和南苜蓿 *M. polymorphan* Linn. 供药用。紫花苜蓿原产伊朗, 而今广泛分布于世界各地, 在我国主要产于西北、华北、东北和江淮流域, 为我国推广应用的主要牧草^[1]。紫花苜蓿因为具有产草量高、利用年限长、再生性强、适口性强和营养丰富的优点, 素有“牧草之王”的称号^[2]。紫花苜蓿的药用价值也非常高, 紫花苜蓿具有清热解毒、凉血通淋、益气健脾温肾的功效, 在我国民间被用于治疗消化不良、黄疸、肺热咳嗽、膀胱结石、痔疮等症, 临床上对尿频、遗尿、腹泻等症有疗效^[3]。研究也证实紫花苜蓿有抗氧化、抗菌、护肝、降血压、调血脂、降血糖、止痛镇痛、调节内分泌、增强机体免疫力、抑制肿瘤细胞生长及改善记忆力等多种生物活性^[4]。

黄酮类化合物是植物中典型的次生代谢产物, 广泛存在于高等植物中, 在氧化-还原动态平衡调控中具有非常重要的作用, 表现出一定的抗肿瘤和抗氧化活性^[5-6]。黄酮类化合物作为苜蓿中的主要活性成分之一^[7], 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^[8]。

目前紫花苜蓿中的黄酮类化学成分的研究主要集中于分离测定^[9]、化感物质、生物合成途径, 以及苜蓿黄酮类物质的生物活性研究。本文对紫花苜蓿黄酮类成分的分类及生物活性进行综述。

1 紫花苜蓿黄酮类成分的分类

到目前为止, 从紫花苜蓿中分离得到以及化感物质和植物生长调节剂的研究中检测到的黄酮类化学成分 70 余种(表 1)^[10-40]。紫花苜蓿黄酮类化学成分主要有以下几种结构类型: 黄酮类、异黄酮类、异黄酮类、查耳酮类、二氢黄酮类、二氢异黄酮类和紫檀烷类等, 其糖基部分多为葡萄糖或葡萄糖醛酸。苜蓿黄酮苷类成分的母核主要为苜蓿素(tricin)、芹菜素(apigenin)、木犀草素(luteolin)、金圣草黄素(chrysoeriol)、美迪紫檀素(medicarpin)、维斯体素(vestitol)、sativanone、刺芒柄花黄素(formononetin)、柚皮素(naringenin)、槲皮素(quercetin)、阿佛罗莫生(afmosin)、甘草素

收稿日期: 2013-08-06

基金项目: 中央高校基本业务费专项资金项目(zyz2011064); 西北民族大学引进人才教学科研启动费(xbmuyjrc201102)

作者简介: 赵娅敏(1980—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然有机化学。Tel: 18693162258 E-mail: zhaoyam_xbmz@sina.com

表1 紫花苜蓿中的黄酮类化学成分

Table 1 Flavonoids from *M. sativa*

序号	化合物名称	参考文献
	黄酮及其苷类	
1	7, 4'-二羟基黄酮	10-13
2	7, 4'-二羟基黄酮-7-葡萄糖苷	14
3	7, 4'-二羟基黄酮-7-双葡萄糖苷	14
4	7, 3', 4'-三羟基黄酮	14
5	7, 3', 4'-三羟基黄酮-双葡萄糖苷	14
6	芹菜素	15
7	芹菜素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	16
8	芹菜素-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	16
9	芹菜素-7-O-[β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	16
10	芹菜素-7-O-[β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖基]-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	16
11	芹菜素-4'-O-[2'-O-E-阿魏酰基-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	17-18
12	芹菜素 7-O- β -D-吡喃葡萄糖基-4'-O-[2'-O-E-阿魏酰基-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	17-18
13	芹菜素 7-O- β -D-吡喃葡萄糖基-4'-O-[2'-O-p-E-香豆酰基-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	17
14	芹菜素 7-O-{2-O-E-阿魏酰基-[β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷}	16-18
15	芹菜素 7-O-{2-O-p-香豆酰基-[β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷}	16
16	芹菜素 7-O-[2-O-阿魏酰基- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖基]-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	16
17	木犀草素	10-11, 19
18	木犀草素 7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	16
19	木犀草素 7-O-[2-O-阿魏酰基- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖基]-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	16
20	金圣草黄素(柯伊利素)	20
21	金圣草黄素 7-O- β -D-吡喃葡萄糖基-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	21
22	金圣草黄素 7-O-[2'-O-阿魏酰基- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	21
23	金圣草黄素 7-O-{2'-O-阿魏酰基-[β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷}	21
24	槲皮素-3-O-半乳糖苷	12
25	麦黄酮	22-23
26	4-甲氧基麦黄酮	22-23
27	麦黄酮 7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	21
28	麦黄酮单葡萄糖苷	14
29	麦黄酮双葡萄糖苷	14
30	7-O- β -D-吡喃葡萄糖基-3'-O-甲基麦黄酮	21
31	麦黄酮 7-O-[β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	21
32	麦黄酮 7-O-[2'-O-芥子酰基- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	21
33	麦黄酮 7-O-[2'-O-阿魏酰基- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	21
34	麦黄酮 7-O-[2'-O-p-香豆酰基- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷]	21
35	7-O-{2'-O-阿魏酰基-[β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷}	21

续表 1

序号	化合物名称	参考文献
	黄烷酮及其苷类	
36	柚皮素	24
37	圣草酚	24
	美迪紫檀素类	
38	美迪紫檀素	25-27
39	4-甲氧基美迪紫檀素	26
40	10-甲氧基美迪紫檀素	28
41	美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷	29
42	美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷-6"-O-丙二酸盐	13,30-31
43	3-羟基-9, 10-二甲氧基紫檀烷	28
	二氢黄酮类	
44	甘草素	10-12
	异黄烷类	
45	维斯体素	25
46	蒜头素	25-26,32
47	(-)-5'-甲氧基蒜头素	33
48	5-甲氧基蒜头素	26
49	3'-甲氧基蒜头素	28
50	3'-甲氧基-5'-羟基蒜头素	28,33
51	7-羟基-2', 3', 4'-甲氧基异黄酮	28
52	7, 5'-二羟基-2', 3', 4'-三甲氧基异黄酮	28
	查耳酮类	
53	异甘草素	34-35
54	4, 4'-二羟基-2'-甲氧基查耳酮	10,11,13,36
55	甘草素	15
56	2'-甲氧基异甘草素	36
57	4, 2', 4', 6'-四羟基查耳酮	34
	异黄酮类	
58	芒柄花苷	14,37
59	芒柄花素	12,37
60	丙二酰基芒柄花苷	15
61	芒柄花素-7-O-葡萄糖苷-6"-O-丙二酸盐	31
62	2'-羟基芒柄花素	15
63	vistin	30
64	大豆黄素	14
65	大豆黄素-7-葡萄糖苷	14
66	阿佛洛莫生-7-O-葡萄糖苷-6'-O-丙二酸盐	30
67	染料木素	38
68	染料木素 7-O-葡萄糖苷	24
69	鸡豆黄素 A	35
70	6, 7, 12-三羟基香豆素	39
71	8, 12-dihydroxy-2-(2', 3', 4'-trimethoxybenzoyl)-benzaldehyde	39
72	考迈斯托醇	14,40
73	7-羟基-11,12-二甲氧基考迈斯托醇	14
74	4'-O-甲基考迈斯托醇	14
75	satiol	14
76	苜蓿内酯	14
	二氢异黄酮类	
77	vestitone	29

(liquiritigenin)、异甘草素(isoliquiritigenin)、染料木素(genistein)、圣草酚(eriodictyol)、大豆素(daidzein)、鹰嘴豆素A(biochanin A)、香豆雌酚(coumestrol),其中以芹菜素、木犀草素、苜蓿素最为常见。

2 紫花苜蓿黄酮的生理活性研究

紫花苜蓿黄酮的生物活性主要有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抑菌、止痛镇痛、抗出血和促凝血、提高免疫力和雌激素样作用等。

2.1 协同和拮抗雌激素的作用

2.1.1 协同雌激素作用 从苜蓿中分离出苜蓿素和4-甲氧基苜蓿素,实验发现苜蓿素有轻度雌激素样作用^[22]。到目前为止,紫花苜蓿中已发现的大豆黄酮、染料木素、鸡豆花素、香豆雌酚、芒柄花素等异黄酮类化合物具有与雌二醇(E₂)相似的结构,具有微弱雌激素活性,又被称为植物雌激素^[41]。异黄酮类化学成分与机体的E₂受体竞争性结合,通过神经内分泌系统的下丘脑-垂体-性腺轴调控生殖、泌乳和产蛋机能,并在生长轴、甲状腺轴等参与下,促使相关代谢激素参与营养过程,对雌性动物的生殖、泌乳和产蛋的效应,与使用剂量、持续时间和动物所处的生理状态呈现正负双向作用^[9]。Noteboom等^[42]研究发现,香豆雌酚活性相当于E₂的5%,染料木素和芒柄花素分别为1%和0.01%。大豆黄酮、染料木黄酮等异黄酮可缓解去卵巢小鼠骨质疏松和脂肪代谢失调^[43]。紫花苜蓿黄酮的雌激素作用主要体现在以下2个方面。

(1) 促进动物生长:朱宇旌等^[44]研究发现,低剂量紫花苜蓿异黄酮处理可提高雄性小鼠平均日增质量和胃质量百分率;中剂量紫花苜蓿异黄酮可提高脾脏系数、小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬率和小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬指数;高剂量苜蓿异黄酮可提高胸腺系数和血清溶血素值;各剂量紫花苜蓿异黄酮处理可提高小鼠迟发性变态反应右耳增厚值。

周萍芳^[45]在鸡的日粮中添加300 mg/kg紫花苜蓿黄酮提取物,能够提高麻鸡的生产性能,提高营养物质的代谢率,提高胴体品质,降低腹脂率,改善免疫功能。另外,在肉仔鸡的日粮中添加600 mg/kg的紫花苜蓿素可以提高肉仔鸡的生长性能,提高饲料转化率^[46]。崇仁麻鸡母雏饲料中添加紫花苜蓿黄酮提取物在一定程度上提高了崇仁麻鸡母雏平均日采食量、鸡的体质量和日增质量;降低了料重比,提高养分利用率;降低粗脂肪的利用率,提

高钙的利用率^[47]。

(2) 促进生殖、泌乳和产蛋效应:低剂量的紫花苜蓿黄酮可以显著提高性成熟雌鼠的E₂水平以及子宫湿质量,降低卵巢湿质量。对未性成熟雌鼠,紫花苜蓿黄酮对激素的影响不显著,但中低剂量可以显著降低子宫湿质量。此外,紫花苜蓿黄酮可以提高性成熟大鼠的产仔数,对初生窝重有提高的趋势。配种前ig不同剂量的紫花苜蓿黄酮可以在一定程度上影响性成熟和未性成熟雌鼠的激素分泌和生殖器官的发育,但不能明显改善雌鼠的繁殖性能^[48]。

2.1.2 拮抗雌激素的作用 在正常情况下,紫花苜蓿中不含香豆醇类成分或量很低,但当受到苜蓿假盘菌的感染而出现褐斑病后,香豆醇类物质如拟雌内酯等的量就会剧增,该类物质可能致使垂体和卵巢间正常的激素调节紊乱或是抑制垂体促性腺激素的分泌,对动物的排卵数及产羔率会产生影响。由于真菌感染,紫花苜蓿叶中香豆醇类物质的量高达 6×10^{-4} ,以此苜蓿叶饲养母羊8周后,排卵数、双羔率和总产羔率均降低。但香豆醇类物质可能只是在性周期的后期才起危害作用,这一点已在发情期某一特定阶段交叉用含有和不含雌激素类似物的日粮饲喂母羊的实验中得到证实^[49]。

2.2 提高机体免疫力

异黄酮类化合物通过改善细胞免疫功能、调节体液免疫和增强非特异性免疫来提高T细胞、NK细胞和K细胞的免疫机能,从而促进动物机体免疫力。其作用机制主要有3个方面:(1)直接作用于胸腺、脾脏等免疫器官或各种免疫细胞上的雌激素受体;(2)调节垂体生长激素和催乳素的分泌;(3)降低体内生长抑素对免疫细胞的抑制作用^[50]。

紫花苜蓿异黄酮对小鼠的特异性和非特异性免疫功能均有一定的提高和改善作用,其应用的适宜剂量为每天120 mg/kg^[44]。染料木素在质量浓度小于0.5 $\mu\text{g/L}$ 时,能明显增强NK细胞的活性^[51]。染料木黄酮还可以提高小鼠的抗辐射能力,在Csy射线照射实验中,给予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86.8%,血清溶血素量提高90.9%,同时脾脏功能也有很大提高,从而可以提高辐射小鼠的免疫功能^[52]。

江勇等^[53]在肉仔鸡饲料中添加苜蓿素,可提高肉仔鸡的免疫器官指数、血清球蛋白量和T、B淋巴细胞转化率,提高了血凝抑制价,即提高了机体的免疫功能。

2.3 抗氧化作用

紫花苜蓿黄酮粗提物对猪油具有良好的抗氧化作用,VC和VE等对紫花苜蓿黄酮粗提物具有明显的协同抗氧化作用,效果优于单独添加0.2%黄酮粗提物和VC、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)^[54]。从紫花苜蓿中提取的大豆黄酮和苜蓿素的抗氧化作用可防止肾上腺素的氧化^[22]。张纵圆^[55]对苜蓿不同溶剂提取物清除自由基 O_2^- 和 $\cdot OH$ 及还原能力进行了研究。结果显示,紫花苜蓿提取物清除 O_2^- 能力和还原能力为:醋酸乙酯萃取物>乙醇提取物>水提物>氯仿萃取物;清除 $\cdot OH$ 能力为:醋酸乙酯萃取物>乙醇提取物>氯仿萃取物>水提物,并且苜蓿各提取物清除 $\cdot OH$ 自由基的能力弱于清除 O_2^- 自由基的能力,其抗氧化能力来源于苜蓿黄酮。

苜蓿素可以显著清除Fenton反应体系中产生的 $\cdot OH$ 自由基,且对 O_2^- 的清除有显著的加速作用,苜蓿素对大鼠肝匀浆自发性脂质过氧化的影响由于丙二醛(MDA)的生成产生一定的抑制作用^[56]。

王成章等^[57]报道添加紫花苜蓿草粉能显著提高黄河鲤鱼血清和肝胰脏中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力,同时也能显著或极显著降低MDA量,说明紫花苜蓿草粉能有效提高黄河鲤鱼的抗氧化能力,这与紫花苜蓿中含有大量苜蓿黄酮等活性物质有关。紫花苜蓿黄酮类物质可以通过抑制低密度脂蛋白(LDL)的氧化,降低冠心病的患病机率。Heywang等^[58]报道绝经后的妇女患冠心病的机率增加,其中一个重要因素是LDL的氧化,研究发现紫花苜蓿提取物可以有效抑制LDL的氧化。对紫花苜蓿总黄酮的研究发现其具有调血脂、降低LDL-C量、预防和减轻动脉硬化的作用;同时也具有抑制氧自由基损伤、防止脂质过氧化的作用^[59-60]。因此,紫花苜蓿黄酮类化合物在防治心血管疾病方面也可以起到良好的作用^[61],如防止动脉硬化,调血脂,降低胆固醇、血糖,舒张血管和改善血管通透性等,应用前景非常广阔。

2.4 抗肿瘤作用

Boue等^[62]在乳腺癌细胞MCF-7增殖实验中发现紫花苜蓿甲醇提取物表现出了超过 E_2 的雌激素活性,可以诱导具有抑制细胞增殖作用的基因表达。染料木素在质量浓度小于0.5 $\mu g/L$ 时,可以抑制肿瘤细胞的生长和增殖。吴健全等^[52]发现染料木黄酮可以提高辐射小鼠的免疫功能,这与染料木黄酮显

著抑制促癌剂佛波酯(TPA)诱导的多形核细胞及HL-60细胞中 H_2O_2 的形成,并中等强度地抑制HL-60细胞中 O_2^- 自由基的形成有关^[63]。用5 $\mu mol/L$ 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降低^[64]。

紫花苜蓿中的芹菜素也具有一定的抗癌作用。Fotsis等^[65]研究发现芹菜素可通过抑制肿瘤细胞分泌的促血管生长的碱性成纤维生长因子(bFGF)活性降低其对血管内皮细胞的刺激作用。体外实验研究显示,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^[51]。Shenouda等^[66]在以小鼠子宫细胞为实验对象的竞争性 $3H-E_2$ 配合体结合实验中发现,芹菜素可以显著抑制前列腺癌细胞LNCaP的生长。Yin等^[67]以浓度12.5~50.0 $\mu mol/L$ 的芹菜素进行实验,发现其可抑制甲状腺癌细胞ARO的生长,当浓度达100 $\mu mol/L$ 时可诱导ARO细胞凋亡。Smolinski等^[68]研究表明,在小鼠体内外实验中发现芹菜素可抑制细菌内毒素诱导的白细胞介素和肿瘤坏死因子的产生。Casagrande等^[69]报道芹菜素可以通过抑制黑色素瘤细胞OCM周期蛋白依赖性激酶(CDK1)的表达,使细胞阻滞于 G_2/M 期,从而达到抑制肿瘤细胞生长的作用。

Cai等^[70-71]研究发现在突变型4~18周龄的Apc^{min}鼠的饲料中添加0.2%苜蓿素,与对照组相比,患肠癌的机率降低了33%;进一步的实验还发现苜蓿素可以抑制恶性胸腺癌细胞MDA-MB-468的生长。Al-Fayez等^[72]通过免疫蛋白印迹法和竞争性免疫法实验,发现1 $\mu mol/L$ 苜蓿素可以抑制环氧酶(COX)-1与COX-2的活性,25 $\mu mol/L$ 芹菜素可以下调COX-2在人眼角膜上皮细胞HCEC中的表达水平,并且苜蓿素和芹菜素均可以降低HCEC中COX代谢产物前列腺素 E_2 的水平。

Horn-Ross等^[73]发现,苜蓿芽中含有的刺芒柄花黄素能明显促进植物血凝素诱导的甲基- 3H 胸腺嘧啶核苷参入的淋巴细胞转化^[74],从而降低人甲状腺癌的发生率。

2.5 抑菌作用

采用打孔法、试管二倍稀释法的体外抑菌实验,证明紫花苜蓿总黄酮对大肠杆菌、金色葡萄球菌、绿脓杆菌、白色葡萄球菌有不同程度的抑制作用。紫花苜蓿中的formononetin、5,7-二羟基黄酮和橙皮素在5 mg/L时能抑制丛枝菌根真菌摩西球囊霉孢

子萌发和菌丝生长^[75]。

2.6 其他作用

紫花苜蓿总黄酮可使小鼠的出血时间和凝血时间明显缩短,具有抗出血和促凝血作用^[4],同时可使醋酸引起的小鼠肛门渗出液减少,溃疡面积缩小,溃疡愈合时间缩短^[4]。对二甲苯引起的小鼠耳肿胀与鸡蛋清所致的小鼠足趾肿胀和琼脂肉芽肿等炎症有明显改善作用^[4]。物理镇痛法(热板法)和化学镇痛法(醋酸扭体法)均显示紫花苜蓿总黄酮有显著镇痛效果,且随着时间的延长镇痛作用持续,可明显减弱因ip醋酸引起的小鼠疼痛反应^[4]。许东晖等^[76]在研究苜蓿素对NIH系小鼠记忆障碍的作用时发现,连续给予苜蓿素30 d后的小鼠在Y型迷宫、跳台实验、明暗箱实验中表现出较好的学习记忆能力,其机制是苜蓿素通过清除自由基,改善了小鼠的记忆功能。

3 结语

紫花苜蓿含有大量黄酮类化合物,由于其黄酮类化合物具有多种药理及保健功效,近年来对其黄酮类化合物的研究逐渐增多,但在开发紫花苜蓿黄酮类成分的过程中仍存在以下几个问题需要解决:(1)紫花苜蓿中的黄酮类成分随其病虫害、刈割期、加工方式、贮藏条件的不同而表现出较大差异,从而影响了其产量与质量;(2)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,不适于大规模生产,对紫花苜蓿黄酮的提取远未达到商业化生产的水平;(3)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,体外实验和动物实验发现黄酮类化合物具有双向作用,限制了紫花苜蓿黄酮的开发利用;(4)紫花苜蓿黄酮的作用机制在许多方面还不清楚,仅有大量的体外实验数据,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,限制了其在饲料工业中的应用;(5)目前,我国对紫花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,对紫花苜蓿的基础研究非常薄弱,药用和保健方面研究较少。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 邓斌,王存嫦,刘志伟,等.超声波提取紫花苜蓿中

黄酮类化合物的工艺研究[J].江苏农业科学,2009,1:257-258.

- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编辑委员会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999.
- [4] 贾秀娟.苜蓿总黄酮制备工艺及其药效学研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2012.
- [5] 曹志超,顾翔,苏佩清.黄酮类化合物抗氧化及其作用机制的研究进展[J].实用临床医药杂志,2009,13(7):110-112.
- [6] 韩梅,金光洙,朴惠顺.异黄酮类成分抗肿瘤作用研究进展[J].中草药,2006,37(9):附1-附3.
- [7] 蔡遵金,陈爱莲,赵炎,等.紫花苜蓿提取物及活性成分研究进展[J].草食家畜,2011(1):11-13.
- [8] 李云霞,贺文智,索全伶,等.黄酮类化合物活性及构效关系研究概况[J].内蒙古石油化工,2004,30(2):10-12.
- [9] 王淑惠,李兰芳,张勤增,等.不同生长期紫花苜蓿中苜蓿素的测定[J].中草药,2009,40(2):311-312.
- [10] Carmen C, José-Angelo S Z, Christophe S, et al. Alfalfa root flavonoid production is nitrogen regulated[J]. Plant Physiol, 1995, 108: 533-542.
- [11] Carl A M, Ueli A H, Cecillia M J, et al. A chalcone and two related flavonoids released from alfalfa roots induce nod genes of *Rhizobium meliloti* [J]. Plant Physiol, 1989, 91: 842-847.
- [12] Siu M T, Donald A P. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus* spores *in vitro* [J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57(5): 1485-1488.
- [13] Heather I M, Nancy L P, Richard A D, et al. Chalcone synthase transcripts are detected in alfalfa root hairs following inoculation with wild-type *Rhizobium meliloti* [J]. J Am Chem Soc, 1997, 119(1): 50-58.
- [14] Arthur F O, Robert T S. Flavones, isoflavones, and coumestans in alfalfa infected by *Ascochyta imperfecta* [J]. Phytopathology, 1971, 61: 65-69.
- [15] José-Angelo S Z, Pierre H C, Jean-Charles Q, et al. Production of *Sinorhizobium meliloti* nod gene activator and repressor flavonoids from *Medicago sativa* roots [J]. Molecular Plant-Microbe Interact, 1998, 11(8): 784-794.
- [16] Anna S, Sonia P, Cosimo P, et al. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids. 1. apigenin and luteolin glycosides from aerial parts [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 753-758.
- [17] Anna S, Ana M S, Francisco A M, et al. Acylated apigenin glycosides from alfalfa (*Medicago sativa* L.) var. Arta [J]. Phytochemistry, 2001, 57: 1223-1226.
- [18] Sylwia G, Iwona L, Bogumil L. Effect of alfalfa saponins and flavonoids on pea aphid [J]. Entomol Exp Appl, 2008,

- 128: 147-153.
- [19] Spencer R R, Bickoff E M, Lundin R E. Lucernol and sativol, two new coumestans from alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *J Agric Food Chem*, 1966, 14(2): 162-165.
- [20] Donald A P, Jacques W, Cecillia M J, et al. Release of flavonoids and betaines from seeds of seven *Medicago* species [J]. *Crop Sci*, 1995, 35(3): 805-808.
- [21] Anna S, Ana M S, Francisco A M, et al. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids. 2. Tricin and chrysoeriol glycosides from aerial parts [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 5310-5314.
- [22] 卢成, 曾昭海, 张涛, 等. 紫花苜蓿生物活性成分研究进展 [J]. 草业科学, 2005, 22(9): 28-32.
- [23] 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.
- [24] Mariangela H, Cecillia M J, Donald A P. Rhizobium nod gene inducers exuded naturally from roots of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. *Plant Physiol*, 1991, 97: 759-764.
- [25] John L I. Isoflavonoid phytoalexins of the genus *Medicago* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 1979, 7: 29-34.
- [26] Ill-Min C, David S, Darrell A M, et al. Autotoxic compounds from fresh alfalfa leaf extracts: identification and biological activity [J]. *J Chem Ecol*, 2000, 26(1): 315-327.
- [27] David L D, Gayland F S, Roger W M. Medicago delays alfalfa seed germination and seedling growth [J]. *Crop Sci*, 1990, 30: 162-166.
- [28] Spencer G F, Jones B E, Plattner R D, et al. A pterocarp and two isoflavans from alfalfa [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(12): 4147-4149.
- [29] Hanne V, Donald A P, Yaacov O, et al. Suppression of an isoflavonoid phytoalexin defense response in mycorrhizal alfalfa roots [J]. *Plant Physiol*, 1995, 108: 1449-1454.
- [30] Helmut K, Robert E, Paul W G, et al. Stress responses in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plant Physiol*, 1990, 94: 227-232.
- [31] Andrew D P, Sarah A T, Robert E. The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106: 195-202.
- [32] Ingham J L, Millar R L. Sativan and induced isoflavan from the leaves of *Medicago saliva* L. [J]. *Nature*, 1973, 242: 125-126.
- [33] Miller R W, Spencer G F, Putnam A R. (-)-5'-Methoxysativan, a new isoflavan from alfalfa [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(3): 634-636.
- [34] Balance G M, Richard A D. *Medicago sativa* cDNAs encoding chalcone reductase [J]. *Plant Physiol*, 1995, 107: 1027-1028.
- [35] Geneviève L, Robert C, Peter M, et al. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus [J]. *J Plant Physiol*, 2002, 159: 1329-1339.
- [36] Kape R, Parniske M, Brandt S. Isoliquiritigenin, a strong nod gene- and glyceollin resistance-inducing flavonoid from soybean root exudate [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(5): 1705.
- [37] Hanne V, Yonatan E, Yaacov O, et al. A vesicular arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradix*) induces a defense response in alfalfa roots [J]. *Plant Physiol*, 1994, 104: 683-689.
- [38] Jean G C, Christian S, Genevieve L, et al. Systemically suppressed isoflavonoids and their stimulating effects on nodulation and mycorrhization in alfalfa split-root systems [J]. *Plant Soil*, 2006, 285: 257-266.
- [39] Dewick P M, Martin M. Biosynthesis of pterocarp and coumestan metabolites of *Medicago sativa*: chalcone, isoflavone and isoflavanone precursors [J]. *Phytochemistry*, 1979, 18: 597-602.
- [40] Sherwood R T, Olah A F, Oleson W H, et al. Effect of disease and injury on accumulation of a flavonoid estrogen, coumestrol, in alfalfa [J]. *Phytopathology*, 1970, 60: 684-688.
- [41] 王妍琪, 单安山. 异黄酮类化合物的营养作用及其应用 [J]. 中国饲料, 2003(18): 18-20.
- [42] Noteboom W. Estrogenic effect of genistein and coumestrol diacetate [J]. *Endocrinology*, 1963, 88: 262.
- [43] Uesugi T, Toda T, Tsugi K, et al. Comparative study on reduction of bone loss and lipid metabolism abnormality in ovariectomized rats by soy isoflavones, daidzin, genistin, and glycitin [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24: 368-372.
- [44] 朱宇旌, 张勇, 宁自利, 等. 苜蓿异黄酮提取物对小鼠生长和免疫功能的影响 [J]. 营养学报, 2008, 30(6): 615-618.
- [45] 周萍芳. 苜蓿黄酮提取物对麻鸡生产性能及脂肪沉积的影响 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2011.
- [46] 佟建明, 萨仁娜, 单之玮, 等. 苜蓿草对肉仔鸡和仔猪生产性能的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2004, 31(2): 19-21.
- [47] 熊小文, 周萍芳, 丁君辉, 等. 苜蓿草粉和苜蓿黄酮提取物对崇仁麻鸡母雏生长性能和养分利用率的影响 [J]. 江西畜牧兽医杂志, 2012(3): 30-33.
- [48] 王伟, 马登坦, 翟新莹, 等. 苜蓿黄酮对雌性大鼠生长和繁殖性能的影响 [J]. 草业学报, 2013, 22(2):

- 100-108.
- [49] 赵开典. 豆科牧草中的雌激素对绵羊繁殖性能的影响 [J]. 国外畜牧学: 草食家畜, 1986(4): 24-26.
- [50] 屈健. 异黄酮类化合物的生物学功能及其在养殖业中的应用 [J]. 兽药与饲料添加剂, 2002, 7(4): 18-20.
- [51] 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.
- [52] 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.
- [53] 董晓芳, 江勇, 高微微, 等. 苜蓿素对肉仔鸡免疫、内分泌和脂类代谢的一些指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2007(4): 407-410.
- [54] 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.
- [55] 张纵圆. 新疆紫花苜蓿中有效化学成分分析及其抗氧化性研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2008.
- [56] 王志旺, 张扬, 程芳, 等. 五脉绿绒蒿总黄酮及其苜蓿素的体外抗氧化活性 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(22): 4381-4383.
- [57] 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.
- [58] Heywang B W. High level of alfalfa meal in diets for chickens [J]. *Poultry Sci*, 1950, 29: 804-811.
- [59] 李宝兰, 张咏梅, 卢小康, 等. 苜蓿总黄酮对小鼠脂类代谢及氧自由基的影响 [J]. 江西农业学报, 2008, 20(12): 99-101.
- [60] 李宝兰, 张咏梅, 卢小康, 等. 苜蓿总黄酮对小鼠脂类代谢及氧自由基的影响 [J]. 草业科学, 2009, 26(8): 93-96.
- [61] 白风梅, 蔡同一. 类黄酮生物活性及其机理的研究进展 [J]. 食品科学, 1999(8): 11-14.
- [62] Boue S M, Wiese T E, Nehls S, *et al.* Evaluation of the estrogenic effects of legume extracts containing phytoestrogens [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(8): 2193-2199.
- [63] Wei H C, Bowen R, Cai Q Y, *et al.* Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1995, 208: 124-130.
- [64] 余小平, 糜漫天, 朱俊东. 染料木黄酮对MDA2MB2453 乳腺癌细胞 VEGF 表达的影响 [J]. 营养学报, 2005, 27(4): 322-325.
- [65] 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.
- [66] 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.
- [67] 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.
- [68] 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.
- [69] 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.
- [70] Cai H, Hudson E A, Mann P, *et al.* Growth-inhibitory and cell cycle-arresting properties of the rice bran constituent tricin in human-derived breast cancer cells *in vitro* and in nude mice *in vivo* [J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(7): 1364-1371.
- [71] Cai H, Al-Fayez M, Tunstall R G, *et al.* The rice bran constituent tricin potently inhibits cyclooxygenase enzymes and interferes with intestinal carcinogenesis in ApcMin mice [J]. *Mol Cancer*, 2005, 4(9): 1287-1292.
- [72] Al-Fayez M, Cai H, Tunstall R, *et al.* Differential modulation of cyclooxygenase-mediated prostaglandin production by the putative cancer chemopreventive flavonoids tricin, apigenin and quercetin [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 58(6): 816-825.
- [73] Horn-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*, 2002, 11(1): 43-49.
- [74] 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.
- [75] Shalaby A M. Influence of flavonoid compounds on VA mycorrhiza *Glomus mosseae* and alfalfa plants [J]. *Egypt J Microbiol*, 2000, 35: 225-238.
- [76] 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.