

UPLC-MS/MS 快速测定甘蓝类蔬菜中活性成分莱菔硫烷

李占省¹, 刘玉梅^{1*}, 方智远¹, 杨丽梅¹, 庄木¹, 张扬勇¹, 李凌云², 吕红豪¹, 孙培田¹

(1. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 2. 农业部蔬菜品质监测检验中心, 北京 100081)

摘要 [目的]为了建立快速测定甘蓝类蔬菜(甘蓝、青花菜、芥蓝、苤蓝)中莱菔硫烷活性成分的方法。[方法]采用超高效液相色谱-串联质谱 UPLC-MS/MS, 快速测定甘蓝类蔬菜中莱菔硫烷含量。[结果]采用酶解-乙酸乙酯萃取法提取莱菔硫烷, Waters BEH 反相 C₁₈ (2.1 mm × 50.0 mm, 1.7 μm) 分离, 质谱采用电喷雾正离子 ESI(+) 电离, 多反应监测扫描模式(MRM)检测。在 4 种甘蓝类蔬菜(可食性器官)中均检测到莱菔硫烷成分, 在 0.1~20.0 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数为 0.999 4, 相对标准偏差(RSD, n=6)为 2.4%, 检出限(LOD, S/N=3)为 0.06~0.15 μg/L, 定量下限(LOQ, S/N=10)为 0.3~0.4 μg/L。[结论]该方法准确可靠, 能够快速检测甘蓝类蔬菜中莱菔硫烷抗癌活性成分。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱法; 甘蓝类蔬菜; 抗癌成分; 莱菔硫烷

中图分类号 S 635 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)36-01-03

Determination of Bioactive Compound Sulforaphane in Brassica Vegetables by UPLC-MS/MS

LI Zhan-sheng, LIU Yu-mei*, FANG Zhi-yuan et al (Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract [Objective] The aim was to establish a rapid method for the determination of sulforaphane in Brassica vegetables (cabbage, broccoli, Chinese kale and kohlrabi). [Method] Ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was developed to determine the sulforaphane content in Brassica vegetables. [Result] Sulforaphane was extracted by the solvent of ethyl acetate. The compound was separated on Waters BEH C₁₈ (2.1 mm × 50.0 mm, 1.7 μm) column, and mass spectrum was analyzed by electro spray ionization in positive mode ESI(+) under multiple reaction monitoring (MRM) mode. Brassica vegetables contained sulforaphane, and the calibration curve showed a good linear in the range of 0.1-20.0 μg/L with the correlation coefficient of 0.999 4. The relative standard deviation (RSD) was 2.4% (n=6). The detection limit (LOD, S/N=3) was in range of 0.06-0.15 μg/L, and the quantitation limit (LOQ, S/N=10) was 0.3-0.4 μg/L. [Conclusion] The method was accurate and reliable, so it could quickly detect the anti-cancer compound of sulforaphane in Brassica vegetables.

Key words UPLC-MS/MS; Brassica vegetables; Anti-cancer compound; Sulforaphane

十字花科芸苔属蔬菜 (*Brassica oleracea*) 如甘蓝、白菜、青花菜、花椰菜、芥蓝、苤蓝等含有丰富的粗纤维、蛋白质、维生素 C 和一些矿物质如钙、磷、铁、锌等。其中, 芸苔属甘蓝类蔬菜如青花菜、甘蓝、羽衣甘蓝等还含有一种抗癌活性成分——莱菔硫烷 (Sulforaphane, SF) (图 1)。莱菔硫烷分子量为 177.29, 是一种异硫氰酸盐类物质。它在蔬菜中以 4-甲亚磺酰基丁基硫甙 (Glucoraphanin, GRA 或 RAA) 的形式存在于植物液泡中。GRA 自身并无生物活性, 只有当细胞遭到破坏时才与细胞基质中黑芥子酶发生水解反应, 生成莱菔硫烷^[1-2]。研究表明, 莱菔硫烷能够显著降低多种癌症的发病率如胃癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌和肺癌等。此外, 它在治疗近视、老年痴呆和心脑血管疾病方面也有一定的功效^[3-10]。

莱菔硫烷的检测方法有气相色谱 (GC)、气相色谱-质谱 (GC-MS) 和高效液相色谱 (HPLC)^[11-12]。目前, 人们多采用 HPLC 法测定莱菔硫烷含量, 但莱菔硫烷在高温下不稳定且易降解, 所以 GC 和 GC-MS 法逐渐被 HPLC 替代。由于

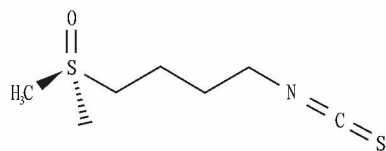


图 1 莱菔硫烷结构式

HPLC 法往往需要较长的洗脱时间或冲洗时间, 检测比较耗时^[13]。因此, 建立一种快速、准确检测蔬菜中莱菔硫烷的方法, 对于提高工作效率和减少试剂消耗具有重要价值。笔者采用酶解-萃取法提取莱菔硫烷, 以甲醇和水为流动相, 建立一种快速检测莱菔硫烷的超高效液相色谱-串联质谱法 (UPLC-MS/MS)。

1 材料与方法

1.1 试验材料 莱菔硫烷标准样品购于美国 LKTTM, 纯度大于 98%。将 10 mg 标准品用甲醇 (HPLC) 定容到 10 ml 棕色容量瓶中, 配制成 1 000 mg/L 的母液, 在 -20 °C 低温、避光保存。根据需要吸取一定量的母液, 将其分别稀释成 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 和 20.0 μg/L 系列标准液。

1.2 样品采集 甘蓝类蔬菜被栽培于中国农业科学院蔬菜花卉研究所试验基地。分别对甘蓝类蔬菜可食性部分(商品器官)进行取样, 即甘蓝(叶球)4份、青花菜(花球)4份、芥蓝(花薹)4份和苤蓝(球茎)4份。取样后, 将其去杂、擦干, 然后根据需要一定量样品进行液氮处理, 真空冷冻、干燥。

1.3 样品前处理 将真空冷冻、干燥好的样品统一机械粉碎成粉末, 精确称取干燥样品 0.5 g, 按照料液比为 1:30 的比

基金项目 国家自然科学基金项目(31372067); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-25-A); 国家科技支撑计划课题(2013BAD01B04); 国家高新技术发展计划(2012AA100105); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室; 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-IVF-CAAS)。

作者简介 李占省(1982-), 男, 河南濮阳人, 助理研究员, 博士, 从事蔬菜选育与生物技术方面的研究。*通讯作者, 研究员, 博士, 从事蔬菜选育与生物技术方面的研究。

收稿日期 2015-11-13

例加入 pH 为 7.0 的缓冲液(磷酸二氢钾和磷酸氢二钾配制, 0.1 mol/L), 在室温下酶解 1.5 h, 加入 30 ml 乙酸乙酯进行萃取, 5 500 r/min 离心 10.0 min, 收集上清液, 重复萃取 2 次后合并 3 次萃取液, 将萃取液在 35 °C 下旋转蒸干, 最后用 10.0 ml 甲醇定容, 过滤膜(0.22 μm), 低温 -20 °C 保存。

1.4 色谱-质谱条件

1.4.1 色谱条件。 Waters BEH 反相 C₁₈ (2.1 mm × 50.0 mm, 1.7 μm), 柱温 30 °C, 流速 0.25 ml/min, 进样量 10 μl, 流动相为甲醇和水。方法为梯度洗脱, 即 B 泵(甲醇)初始浓度为 40%, A 泵为 60%, 10 min 时 B 泵变为 100%, 13 min 时变为 40%, A 泵又重新变为 60%, 结束此次进样。

1.4.2 质谱条件。 电喷雾离子源 ESI(+), 毛细管电压为 3.0 kV, 离子源温度为 110 °C, 脱溶剂气温度为 350 °C, 脱溶剂气流量为 500 L/h, 锥孔反吹气流量为 50 L/h。检测模式为多反应监测扫描模式(MRM), 见表 1。保留时间为 2.17 min。

表 1 多反应监测

母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥电压 V	碰撞电压 V
178.01	72.1	22	23
178.01	113.9	22	11

2 结果与分析

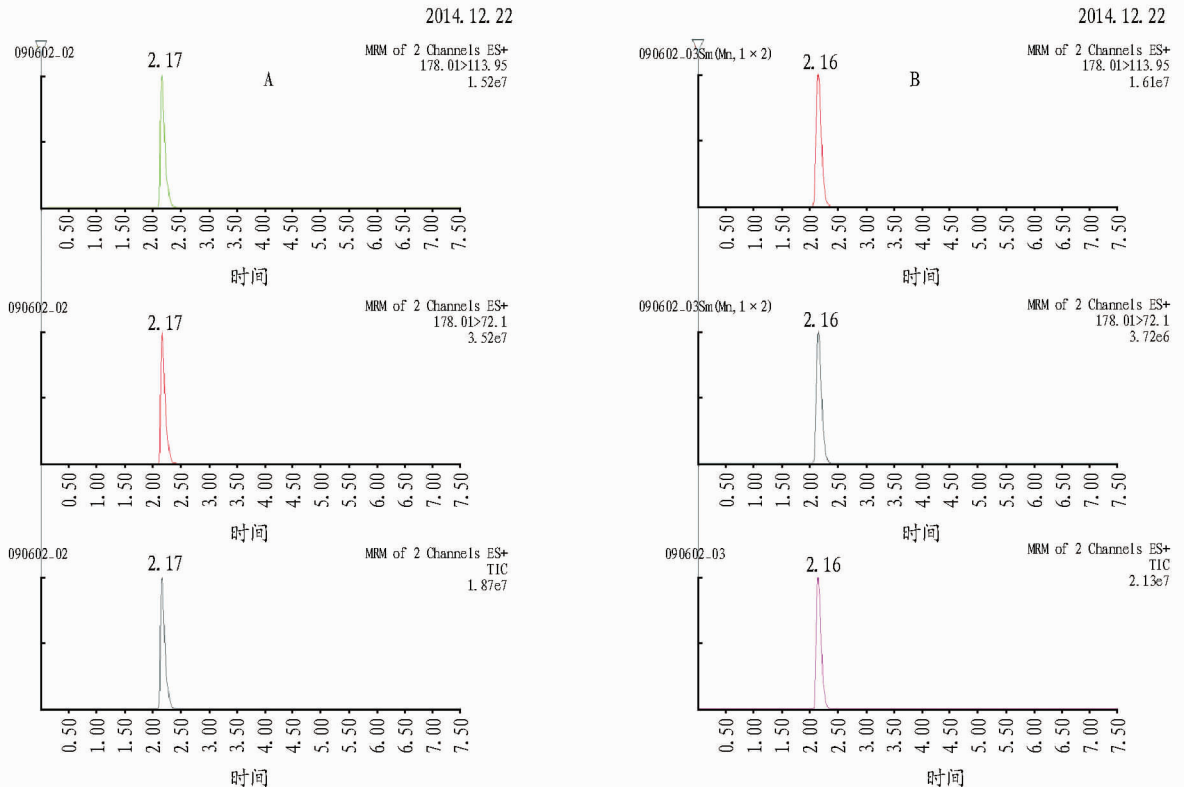
2.1 样品提取条件的优化 莱菔硫烷具有旋光性, 在高温和强酸碱条件下极不稳定^[14]。莱菔硫烷前体 GRA 在不同的 pH 条件下生成的次生代谢产物不同, 在 pH 3.0 ~ 5.0 时以腈类为主, 在中性条件下以异硫氰酸酯类为主, 而莱菔硫

烷就属于该组分, 在偏碱条件下以硫氰酸酯类为主, 因此要提高莱菔硫烷的生成量, 就必须严格控制酶解条件的 pH 环境^[15-16]。

对莱菔硫烷萃取剂的选择, 多采用乙酸乙酯^[17]。该研究对乙酸乙酯、乙腈和二氯甲烷等有机溶剂展开了研究。乙腈与水互溶, 分离比较困难; 二氯甲烷具有中等毒性, 微溶于水, 与水接触后会缓慢释放出氯化氢气体, 且其浓度比水大, 分离繁琐; 乙酸乙酯为萃取剂, 不但可以降低成本和毒性, 其浓度比水小, 不溶于水, 易收集上清液。从表 2 可以看出, 乙酸乙酯加样回收率为 94% ~ 97%, 能够满足试验和生产需要。

2.2 色谱柱的选择 莱菔硫烷是一种饱和异硫氰酸盐, 而流动相中甲醇浓度始终 ≥ 40%。Waters BEH 反相 C₁₈ (2.1 mm × 50.0 mm, 1.7 μm) 柱具有较好的峰对称性和稳定的柱效。1.7 μm 柱是通用的超高效液相色谱柱, 具有较好的 pH 适应性, 能够在 1.0 ~ 12.0 的范围内进行分离。三键键合式烷基柱使其具有较好的选择性和灵敏度。该研究表明, Waters BEH C₁₈ 柱能够很好地分离和检测目标成分。

2.3 色谱条件的选择 常用的流动相有甲醇和水、乙腈和水。该研究采用梯度洗脱的方法, 研究流动相分离莱菔硫烷的效果。从保留时间、杂质干扰程度、峰形和基线漂移等方面进行比较, 发现在流速为 0.25 ml/min, 洗脱程序如表 1 所述条件下, 莱菔硫烷能够快速地被分离和检测, 保留时间为 2.17 min, 峰形对称, 无杂质干扰(图 2)。因此, 最终选用甲醇和水作为流动相。



注: A. 标样, B. 样品。

图 2 样品中莱菔硫烷的 MRM 图谱

2.4 质谱条件的选择 将莱菔硫烷的标准液直接进样后全扫描,找出目标的分子离子峰,对其轰击产生子离子。在MRM模式检测条件下,将分子离子和1~2个信号强度适宜的子离子组成监测离子对,使得特征例子的丰度和比例达到最优。

2.5 线性范围和检出限 将系列标准液(0.1、0.5、1.0、5.0、10.0和20.0 μg/L)进行测定,以峰面积(Y)为纵坐标,以浓度为横坐标进行回归分析,获得线性方程。结果表明,线性方程为 $Y = 3.69e^{-4}X - 1.27$, $R^2 = 0.9994$,标准偏差为2.4%(RSD, n=6),可见线性方程良好。根据前处理过程,计算出仪器检出限(LOD, S/N=3)为0.06~0.15 μg/L,定量下限(LOQ, S/N=10)为0.3~0.4 μg/L,表明该方法具有较高的灵敏度,能够进行莱菔硫烷的准确检测。

2.6 准确度和精密度 分别以1.0和5.0 μg/L 2个浓度进行加样,测定回收率和精密度。从表2可以看出,莱菔硫烷加样回收率为94%~97%,相对标准偏差为0.6%~1.2%,表明该方法准确度和精密度较好。

2.7 样品测定 根据建立的UPLC-MS/MS检测体系,对甘蓝类蔬菜4个变种共计20份材料进行测定。从表3可以看

出,在供试材料中均检测到莱菔硫烷成分,且变种材料间存在差异。检测结果表明,在4种甘蓝变种中莱菔硫烷含量平均值分别为38.65、376.54、151.31和133.79 mg/kgDW,可见青花菜花球中平均含量最高,甘蓝叶球中含量最低,芥蓝和苜蓝含量间差别不大。

表2 莱菔硫烷回收率的测定

添加浓度 μg/L	初始浓 度//μg/L	检测浓 度//μg/L	回收率 %	平均回 收率//%	标准差 (RSD)//%
1	0.5	1.43	95.3		
1	0	0.94	94.0		
1	0	0.95	95.0		
1	0	0.96	96.0		
1	0	0.97	97.0		
1	0	0.94	94.0	95.2	1.2
5	0.5	5.27	95.8		
5	1	5.76	96.0		
5	0	4.79	95.8		
5	0	4.77	95.4		
5	0	4.73	94.6		
5	0	4.73	94.6	95.4	0.6

表3 蔬菜样品中来莱菔硫烷含量

mg/kgDW

序号	甘蓝	青花菜	芥蓝	苜蓝
1	28.55 ± 0.21	450.26 ± 4.27	210.12 ± 2.81	205.33 ± 2.86
2	20.46 ± 0.18	607.95 ± 3.11	200.24 ± 3.23	156.54 ± 1.34
3	40.01 ± 0.52	85.17 ± 1.14	101.82 ± 1.55	110.93 ± 0.82
4	58.05 ± 0.49	371.12 ± 1.99	45.59 ± 0.37	40.51 ± 0.44
5	46.17 ± 0.36	368.21 ± 3.64	198.78 ± 2.28	155.63 ± 1.69

3 结论

该研究用Waters BEH C₁₈柱,以甲醇和水为洗脱溶剂,采用梯度洗脱的方法可准确、快速分离目标物莱菔硫烷,峰形对称。该方法准确可靠,快速灵敏,能够满足在蔬菜中快速检测莱菔硫烷的需要。研究表明,在4个甘蓝类蔬菜变种中均能检测到莱菔硫烷成分,甘蓝叶球中莱菔硫烷含量为20.46~58.05 mg/kgDW,青花菜花球中含量范围为85.17~607.95 mg/kgDW,芥蓝花茎中含量范围为45.59~210.12 mg/kgDW,苜蓝球茎中含量范围为40.51~205.33 mg/kgDW,可见该法能够满足试验和生产需要。

参考文献

[1] AGRAWAL S, WINNIK B, BUCKLEY B, et al. Simultaneous determination of sulforaphane and its major metabolites from biological matrices with liquid chromatography-tandem mass spectroscopy[J]. Journal of chromatography B, analytical technologies in the biomedical and life sciences, 2006, 840(2): 99-107.

[2] ALVAREZ-JUBETE L, VALVERDE J, KEHOE K, et al. Development of a novel functional soup rich in bioactive sulforaphane using broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp *italica*) florets and byproducts[J]. Food Bioprocess Tech, 2014, 7(5): 1310-1321.

[3] ABDULL RAZIS A F, IORI R, IOANNIDES C. The natural chemopreventive phytochemical R-sulforaphane is a far more potent inducer of the carcinogen-detoxifying enzyme systems in rat liver and lung than the S-isomer[J]. International journal of cancer journal international du cancer, 2011, 128(12): 2775-2782.

[4] ABBAOUI B, RIEDL K M, RALSTON R A, et al. Inhibition of bladder cancer by broccoli isothiocyanates sulforaphane and erucin: Characterization, metabolism, and interconversion[J]. Molecular nutrition & food re-

search, 2012, 56(11): 1675-1687.

[5] ABDULL RAZIS A F, NOOR N M. Sulforaphane is superior to glucoraphanin in modulating carcinogen-metabolising enzymes in Hep G2 cells[J]. Asian Pacific journal of cancer prevention, 2013, 14(7): 4235-4238.

[6] AGYEMAN A S, CHAERKADY R, SHAW P G, et al. Transcriptomic and proteomic profiling of KEAP1 disrupted and sulforaphane-treated human breast epithelial cells reveals common expression profiles[J]. Breast cancer research and treatment, 2012, 132(1): 175-187.

[7] ANDELOVA H, RUDOLF E, CERVINKA M. In vitro antiproliferative effects of sulforaphane on human colon cancer cell line SW620[J]. Acta medica, 2007, 50(3): 171-176.

[8] ANNABI B, ROJAS-SUTTERLIN S, LAROCHE M, et al. The diet-derived sulforaphane inhibits matrix metalloproteinase-9-activated human brain microvascular endothelial cell migration and tubulogenesis[J]. Molecular nutrition & food research, 2008, 52(6): 692-700.

[9] LI Z, GALLI U, BECKER L E, et al. Sulforaphane protects hearts from early injury after experimental transplantation[J]. Annals of transplantation: Quarterly of the polish transplantation society, 2013, 18: 558-566.

[10] MYZAK M C, DASHWOOD R H. Chemoprotection by sulforaphane: Keep one eye beyond Keap1[J]. Cancer letters, 2006, 233(2): 208-218.

[11] LIANG H, YUAN Q P, DONG H R, et al. Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography[J]. J Food Compos Anal 2006, 19(5): 473-476.

[12] CAMPAS-BAYPOLI O N, SANCHEZ-MACHADO D I, BUENO-SOLANO C, et al. HPLC method validation for measurement of sulforaphane level in broccoli by-products[J]. Biomedical chromatography: BMC, 2010, 24(4): 387-392.

[13] CELIK H, ARIBURNU E, BAYMAK M S, et al. A rapid validated HPLC method for determination of sulforaphane and glucoraphanin in broccoli and red cabbage prepared by various cooking techniques[J]. Anal Methods-Uk, 2014, 6(13): 4559-4566.

[14] LIANG H, YUAN Q P, XIAO Q. Effects of metal ions on myrosinase activity and the formation of sulforaphane in broccoli seed[J]. J Mol Catal B-Enzym, 2006, 43(1/2/3/4): 19-22.

运动,提高运动能力。此外,沙苑子中有效成分通过上调大鼠海马和中脑组织单胺氧化酶 A(MAO-A)基因,增强 MAO-A 的活性,从而促进 5-羟色胺(5-HT)的分解代谢,有助于消除疲劳,对长时间运动时中枢机能功能改进有积极作用^[48]。

10 研究展望

通过对有关沙苑子的生理功能评价文献综述可以看出,沙苑子的基本药理活性已有相当多的报道;沙苑子的药用价值和保健功能目前已被广泛认可,但对其具体的化学成分与药理功能之间的关系及作用机理尚缺乏针对性的研究。今后,应进一步加强基础和应用研究,特别是亟需运用现代生物、化学技术生产出附加值更高的沙苑子保健品,从而带动苑区生态改善和农民致富。

参考文献

- [1] 常玉华,张清安.沙苑子化学成分研究现状与展望[J].陕西农业科学,2011,6:129-131,186.
- [2] 陈光娟,沈雅琴,马树德.沙苑子的药理研究[J].中草药,1993,24(2):83-85.
- [3] 周佩芳,段泾云,马树德.沙苑子抗炎作用的研究[J].西北药学杂志,1988,3(2):14-16.
- [4] 许青媛.沙苑子总黄酮对实验性高血脂血症血液流变学的影响[J].陕西医学杂志,1987,16(5):61-62.
- [5] 吴敏毓,窦骏.沙苑子对小鼠免疫细胞毒活性的影响[J].皖南医学院学报,1990,9(2):12-14.
- [6] 刘宁,王轲,马兰军,等.沙苑子总黄酮对运动训练大鼠血液中某些生化指标影响的实验研究[J].青海医学院学报,2006,27(2):81-85.
- [7] 汤臣康,谢人明.沙苑子和黄芪药理作用研究I-对麻醉动物脑血流量的影响[J].西北药学杂志,1987,2(1):5-8.
- [8] 尹钟洙,陈淑华,马彬彬.沙苑子总黄酮药理作用研究[J].中药药理与临床,1988,4(4):26-27.
- [9] 薛冰,李景新,陈连璧.沙苑子总黄酮对 SHR 的降压及血流动力学影响[J].中国中药杂志,2002,27(11):855-858.
- [10] XUE B, LI J X, CHAI Q, et al. Effect of total flavonoid fraction of *Astragalus complanatus* R. Br. on angiotensin II-induced portal vein constriction in hypertensive rats [J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(9):759-762.
- [11] 李景新,薛冰,陈连璧.沙苑子总黄酮对高血压大鼠的降压作用及血管紧张素含量的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2002,16(5):336-338.
- [12] 许青媛.沙苑子总黄酮的降脂作用[J].陕西医学杂志,1989,18(1):59-60.
- [13] 谢梅林,朱路佳,刘春宇,等.沙苑子提取物调脂和保肝作用的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2003,9(6):27-29.
- [14] 张秋菊,张建军,贾德贤,等.沙苑子提取物降脂作用实验研究[J].北京中医药大学学报,2007,30(5):323-325.
- [15] 尹钟洙.沙苑子总黄酮药理作用的研究[J].中西医结合杂志,1988(10):635.
- [16] 薛智,陈玉武,张永文.沙苑子抗血小板聚集有效成分的研究[J].中日友好医院学报,1987,1(2/3):58-64.
- [17] 魏德泉,阎惠勤,朱自干,等.沙苑子煎剂对动物肝脏代谢功能的影响[J].西北药学杂志,1986,1(1):20.
- [18] 刘春宇,顾振纶,韩蓉,等.沙苑子提取物对小鼠四氯化碳肝损伤的保护作用[J].中草药,2002,33(12):1104-1106.
- [19] 刘春宇,顾振纶,韩蓉,等.沙苑子黄酮对 CCl₄ 及 D-氨基半乳糖致急性肝损伤的保护作用[J].中草药,2005,36(12):1838-1841.

- [20] 刘春宇.沙苑子有效部位抗肝纤维化作用及其机制研究[D].苏州:苏州大学,2003.
- [21] 刘春宇,顾振纶,张克平,等.沙苑子黄酮抗 CCl₄ 大鼠肝纤维化作用及对 IFN- γ , TGF- β 1 的影响[J].中国药理学杂志,2004,39(12):90-92.
- [22] 刘春宇,顾振纶,张克平,等.沙苑子黄酮对 DMN 诱导的大鼠肝纤维化形成的影响[J].中国药理学通报,2004,20(1):110-113.
- [23] 刘春宇,顾振纶,杜崇民,等.沙苑子黄酮抗裸鼠人肝癌移植瘤的实验研究[J].中国药理学通报,2007,23(6):781-785.
- [24] 孙利兵. FAC 及 EGCG 对 CCl₄ 致小鼠肝纤维化的干预作用及其机制研究[D].苏州:苏州大学,2009.
- [25] 王璟清.沙苑子对小鼠免疫功能的影响[J].陕西新医药,1985,14(2):47.
- [26] 阎惠勤.沙苑子水煎剂对正常小鼠免疫功能的影响[J].陕西中医,1991(7):328-329.
- [27] 段泽云.沙苑子提取物对小鼠免疫功能的影响[J].西北药学杂志,1992,7(1):22-23.
- [28] 刘春宇,顾振纶,杜崇民,等.沙苑子黄酮对 H₂O₂ 荷瘤小鼠的肿瘤抑制作用及对免疫功能的影响[J].中成药,2007,29(11):1690-1691.
- [29] 刘春宇,顾振纶,杜崇民,等.沙苑子抗肿瘤活性部位体内外筛选[J].中草药,2007,38(7):1052-1054.
- [30] 张熠,韦翠萍,刘春宇,等.沙苑子黄酮对 S₁₈₀ 小鼠的抑瘤作用及其免疫功能的影响[J].中草药,2006,37(8):1221-1223.
- [31] 杜崇民.沙苑子黄酮抗肿瘤作用及其作用机制初探[D].苏州:苏州大学,2007.
- [32] 韦翠萍,梁中勤,顾振纶.沙苑子黄酮诱导白血病细胞凋亡及对 Fas、FasL 表达的影响[J].江苏医药,2009,35(8):951-953.
- [33] 赵云霄.沙苑子提取物的抗诱变作用[D].长春:吉林大学,2006.
- [34] 刘春宇,顾振纶.沙苑子的化学成分和药理作用[J].中国野生植物资源,2002,21(2):1-3.
- [35] 李昌勤.沙苑子化学成分及药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2000,11(11):1041-1042.
- [36] 黄文辉.沙苑子的化学、药理及其生药鉴定的研究进展[J].中成药,1994,14(7):38-39.
- [37] 齐琳.沙苑子黄酮抗辐射作用及作用机制的研究[D].苏州:苏州大学,2008.
- [38] 齐琳,刘春宇,吴文倩,等.沙苑子黄酮⁶⁰Co γ 射线损伤作用的影响[J].苏州大学学报(医学版),2008,28(1):26-29.
- [39] 王强.氢醌细胞毒性、DNA 损伤及沙苑子黄酮和 V_C 修复作用的研究[D].苏州:苏州大学,2008.
- [40] 王莉,刘静,杨建雄.脱脂沙苑子乙醇提取物的体外抗氧化活性研究[J].陕西师范大学学报(自然科学版),2008,36(4):72-75.
- [41] 蒙世杰,陈恺,李兆久,等.沙苑子对黑腹果蝇寿命的影响[J].西北大学学报(自然科学版),1993,23(3):292-296.
- [42] 肖爱珍,王忠,谷顺才,等.沙苑子的抗衰老作用[J].航空军医,2004,32(4):155-156.
- [43] 马兰军,韩晓燕,熊正英.沙苑子对耐力训练大鼠不同组织 NO 含量及血清酶活性影响的研究[J].上海中医药杂志,2008,42(4):73-75.
- [44] 马兰军,毛雁,熊正英.沙苑子补充对疲劳训练大鼠力竭运动后机能状态及有氧运动能力的影响[J].天津体育学院学报,2007,22(4):326-328.
- [45] 王轲,熊正英,王家彬.沙苑子对运动训练大鼠骨骼肌自由代谢的影响[J].陕西师范大学学报(自然科学版),2007,35(1):103-106.
- [46] 马兰军,刘根福,毛雁,等.沙苑子对运动大鼠骨骼肌自由代谢及运动能力的影响[J].第四军医大学学报,2007,28(13):1168-1170.
- [47] 聂玉芝.沙苑子对运动训练大鼠脑组织中氨基酸类神经递质及相关基因表达影响的研究[D].西安:陕西师范大学,2005.
- [48] 杨瑾.沙苑子对运动性疲劳大鼠脑组织 5-羟色胺及其相关酶基因表达影响的实验研究[D].西安:陕西师范大学,2005.

(上接第 3 页)

- [15] ROSSITER J T, JONES A M, BONES A M. A novel myrosinase-glucosinolate defense system in cruciferous specialist aphids[J]. *Recent Adv Phytochem*, 2003, 37:127-142.
- [16] ANGELINO D, JEFFERY E. Glucosinolate hydrolysis and bioavailability of resulting isothiocyanates: Focus on glucoraphanin[J]. *J Funct Foods*,

2014,7:67-76.

- [17] LI Z S, LIU Y M, FANG Z Y, et al. Variation of sulforaphane levels in broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) during flower development and the role of gene Aop2[J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2014, 37(9):1199-1211.