

國立台灣大學食品科技研究所

Graduate Institute of Food Science and Technology

National Taiwan University

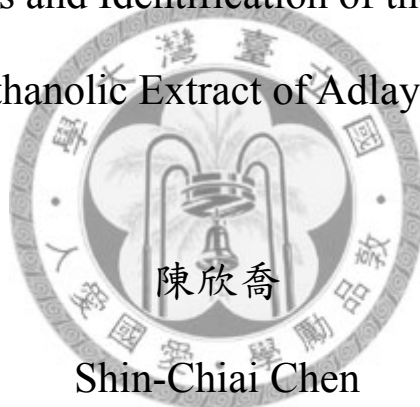
碩士論文

Master Thesis

薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之成分分析與純化鑑定

Component analysis and Identification of the *n*-Hexane Fraction

in Ethanolic Extract of Adlay Bran



Shin-Chiai Chen

指導教授：江文章 博士

郭悅雄 博士

Advisor: Wenchang Chiang, Ph. D.

Yueh-Hsiung Kuo, Ph. D.

中華民國 98 年 7 月

July, 2009

## 謝誌

動筆寫下謝誌，也象徵著碩士生涯即將結束，隨著論文的完成，心中充滿了的是感謝的心情，感謝的對象很多，首先也最為重要的，感謝恩師 江文章博士的教誨，在這段期間的指導與照顧，引領學生在科學的領域上慢步前進，開闢出更大的視野。另一位重要的恩師 郭悅雄博士，學生在化學的領域只懂其粗淺，蒙老師的多方啟迪與教導，方使實驗可順利完成。在此對兩位恩師除了感謝仍然是感謝。

感謝口試委員國立臺灣大學食品科技研究所特聘教授 何其儻博士、國立中國醫藥研究所副所長 林雲蓮博士、國立臺灣大學園藝學系暨研究所副教授 許輔博士，於學生文稿初成時，蒙諸位老師們的耐心省閱、指正疏忽謬誤，惠賜卓見，佐我不逮，使學生論文逐漸充實完善。

感謝 302 室的各位室友與夥伴，明怡學姊、弘育學長、鼎文學長、成沛學長總是能耐心的教導與指正我實驗上的錯誤，並帶我漸漸的溶入這 302 的大家庭。文思學姊、璐齊學姊、倖華學姊、煒傑學長、艾臻、珮芬、譽薰、家余、怡君、志穎、雅婷、思綺、雅祺、盈潔感謝各位碩班的夥伴們，一起打拼努力，並使實驗室充滿歡笑，使原本枯燥乏味的研究生活增添了更多的色彩。

最後要感謝的是養育我長大並永遠都在背後支持我的父母親，以及時常鼓勵並鞭策我的大姊，謝謝你們總是無怨無悔的付出，使我無論是在生活上或實驗上遇到挫敗與困難，總是能夠得到最大的安慰與鼓勵，在此將本論文的成果獻給我  
最摯愛的我的父親、我的母親與我的大姊。

陳欣喬 謹誌

國立臺灣大學食品科技研究所

民國九十八年 七月

## 中文摘要

薏苡 (adlay) 為禾本科一年生草本植物，學名 *Coix lachrymal-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf。根據本草綱目記載薏苡籽實薏仁為藥食兼備的食材，於中國與日本自古就在傳統醫學與民間療法中被廣泛的使用。近年學者也陸續發表薏仁萃取物、薏仁油脂、薏仁加工食品均具有抑制癌細胞生長、轉移和抗腫瘤之功效，且帶有麩皮的薏仁較精白薏仁效果為佳。中國大陸學者使用超臨界二氧化碳萃取薏苡籽實所得的油狀萃取物，以針劑 (康萊特注射劑) 方式施打於實驗動物後發現，可有效抑制腫瘤生長並延長其壽命，具有抗腫瘤與抗惡質化之效用，該學者更進一步發現，此油狀萃取物之主要成分為三酸甘油酯，推測薏仁中之有效抗癌成分可能來自於富含油脂的麩皮。薏仁麩皮油脂含量高達 25% (Wt%)，但除少數文獻外，鮮少研究其組成分、物理化學特性以及生理功效，因此本實驗以薏仁麩皮萃取物之低極性區分層 (薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層) 為材料，以氣相層析質譜儀分析進行成分之定性分析並使用管柱層析以分離純化合物。

氣相層析質譜分析共可得 32 個化合物，7 個植物固醇(phytosterol)；3 個單酸甘油酯 (monoglyceride)；7 個脂肪酸與其酯化物 (free fatty acid & ester)；1 個醯胺 (amide)；1 個醇類 (alcohol)；1 烯類 (alkene)；7 個醛類 (aldehyde)；5 個其他類化合物 (others)。另外經分離純化鑑定所得之化合物為 3-*O*-feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol、stigmasterol、 $\beta$ -sitosterol 與 1,2-, 1, 3-diglyceride 混合物。以文獻搜索探討薏仁低極性區分層之機能性，推測植物固醇、單酸甘油酯以及脂肪酸醯胺為其可能之活性成分。

關鍵詞：薏仁麩皮、氣相層析質譜、植物固醇、單酸甘油酯、脂肪酸醯胺

## Abstract

Adlay (*Coix lachrymal-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) is an one year grass crop that has long been used as traditional Chinese medicine and a nourishing food. Recent studies have shown the effects of adlay are benefit to treat tumor and inflammation. Furthermore, the dehulled adlay has higher activity than polished adlay, especially in the adlay bran. In China, adlay seed was extracted with supercritical CO<sub>2</sub> to get the oily extract that is formulated into an emulsion for injection (Kanglaite injection (KLT)). KLT injection showed the antitumor proliferation and life extension in animal tumor models. It demonstrated the potential for antitumor and anti-cachexia activity of the low polarity fraction of adlay seed. The adlay bran contain about 25% crude fat (Wt%), however, there are less research results shown the characteristic of the low polarity fraction of adlay seed or bran. Therefore the aim of this study is to analyze the composition in the *n*-hexane fraction of adlay bran ethanolic extract by gas chromatography / mass spectrometer (GC / MS). And column chromatography were employed to afford pure compounds.

The study results revealed that there are 32 components identified in the GC / MS analysis, including 7 phytosterol; 3 monoglyceride; 7 free fatty acid & its ester; 1 amide; 1 alcohol; 1 alkene; 7 aldehyde; 5 other species of components. In addition, 3 pure compounds are isolated and identified as stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, 3-*O*-feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol, and 1, 2-, 1, 3-diglyceride mixture. According to the literature review, the possible active components in the *n*-hexane fraction of adlay bran ethanolic extract are phytosterol, monoglyceride, and fatty acid amide.

Keywords: adlay bran, GC / MS, phytosterol, monoglyceride, fatty acid amide

## 目錄

中文摘要.....	I
ABSTRACT.....	II
目錄.....	III
圖目錄.....	V
表目錄.....	VII
壹、前言.....	1
貳、文獻整理.....	3
一、癌症.....	3
(一) 癌症的發生與癌症化學預防.....	3
(二) 發炎反應與癌症形成及發展之關係.....	4
二、薏苡.....	5
(一) 薏苡簡介.....	5
(二) 薏苡成分.....	6
(三) 薏苡成分分析文獻回顧.....	8
(四) 薏苡之機能性.....	10
(五) 薏仁油脂之機能性研究.....	15
參、研究動機與目的.....	19
肆、實驗目的與架構.....	19
伍、材料與方法.....	21
一、實驗材料.....	21
(一) 薏仁麩皮原料.....	21
(二) 試驗藥品.....	21
(三) 分離純化用品.....	21
(四) 儀器設備.....	22
二、實驗方法.....	22
(一) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之製備.....	22
1. 薏仁麩皮乙醇萃取物 (Adlay bran ethanolic extract, ABE) 之製備.....	22
2. 薏仁麩皮乙醇萃取物之正己烷區分層之製備.....	22
(二) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之不同極性區分層與非皂物之製備	
24	
1. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化(winterization)處理.....	24
2. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物(non saponifiable matters)之製備.....	24

3. 以 Flash column 製備薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之不同極性區分層.....	26
(三) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層氣相層析質譜儀分析.....	28
1. 預備實驗.....	28
(1) 預備實驗儀器設備條件.....	28
(2) 預備實驗分析樣品濃度.....	28
(3) 預備實驗結果.....	28
2. 氣相層析質譜儀分析樣品.....	32
3. 實驗儀器設備條件.....	32
4. 資料分析.....	32
(四) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之化學分離與純化.....	35
1. 化學分離純化之策略.....	35
2. 配合分離純化之 TLC spot 檢出工作.....	35
3. 化合物的結構鑑定與分析.....	36
(1) 核磁共振光譜儀鑑定.....	36
(2) 紅外線光譜儀鑑定.....	36
(3) 質譜儀鑑定.....	36
陸、結果.....	38
一、薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層氣相層析質譜儀分析.....	38
(一) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後液體油區分層.....	38
(二) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後固體脂區分層.....	49
(三) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物.....	56
二、ABE-HEX 之成分分離純化.....	59
1. 純化合物結構摘要.....	61
(1). 化合物 S1：3- <i>O</i> -Feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol.....	61
(2). 化合物 S2：Stigmasterol.....	61
(3). 化合物 S3： $\beta$ -Sitosterol.....	61
2. 化合物之結構分析與鑑定.....	62
柒、討論.....	70
一、薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層成分分析.....	70
二、薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之植物化學物與機能性.....	79
捌、結論.....	88
參考文獻.....	89

## 圖目錄

圖 1 薏苡籽實剖面圖.....	6
圖 2 薏仁酯.....	16
圖 3 $\alpha$ -monolinolein .....	16
圖 4 本研究之實驗設計架構圖.....	20
圖 5 薏仁麩皮乙醇萃取物之正己烷區分層之製備流程圖.....	23
圖 6 皂化反應.....	25
圖 7 ABE-Hex 之不同極性區分層與非皂物之製備流程圖.....	27
圖 8 預備實驗 ABE-Hex 總離子圖譜.....	29
圖 9 預備實驗 ABE-Hex-Oil-10% EA 總離子層析圖譜。.....	30
圖 10 [ extracted ion chromatography ]之操作範例.....	34
圖 11 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後液體油各區分層總離子圖譜...41	
圖 12 ABE-Hex-Oil-10% EA 總離子圖譜與各區段化合物種類標示.....	42
圖 13 ABE-Hex-Oil-10% EA 局部放大離子圖譜.....	43
圖 14 ABE-Hex-Oil-EA 局部放大離子圖譜.....	44
圖 15 ABE-Hex-Oil-MeOH 局部放大離子圖譜.....	45
圖 16 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後固體脂各區分層總離子圖譜 .51	
圖 17 ABE-Hex-Fat-EA 局部放大離子圖譜.....	52
圖 18 ABE-Hex-Fat-MeOH 局部放大離子圖譜.....	53
圖 19 ABE-Hex-NS 總離子圖譜.....	57
圖 20 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層 (ABE-Hex) 之成分分離圖.....	60
圖 21-1, -2 化合物 S1 之 $^1\text{H-NMR}$ 與 EI-MS 光譜圖.....	64
圖 22-1, -2 化合物 S2 與化合物 S3 之 $^1\text{H-NMR}$ 與 EI-MS 光譜圖.....	67
圖 23-1 1,3-雙酸甘油酯之 $^1\text{H-NMR}$ 光譜圖.....	69
圖 24 cyclododecyne 與 9-oxabicyclo[6.1.0]nonane .....	71
圖 25 Diels - Alder reaction.....	71

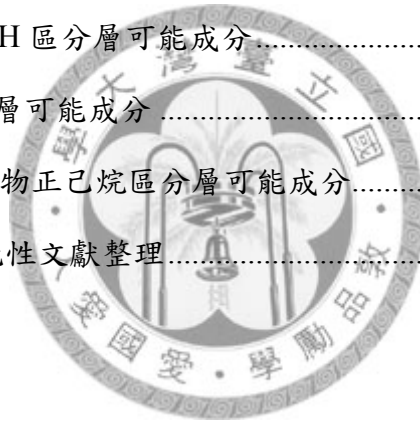
圖 26 植物固醇結構.....	74
圖 27 GC / MS 質譜圖 .....	76
圖 28 薏仁油非皂化物 GC / MS 總離子圖譜 (Wu et al., 2007).....	78
圖 29 ergosta-7-en-3-ol 與 ergostanol 結構 .....	78





## 表目錄

表 01 薏苡籽實及其不同部位之一般組成.....	7
表 02 薏苡中的植物化學成分.....	11
表 03 薏苡仁油脂機能性之文獻整理.....	17
表 04 非皂化物含量與比例.....	25
表 05 ABE-Hex flash column 次區分層重量分布.....	27
表 06 ABE-Hex-Oil- 10 % EA 區分層可能成分.....	46
表 07 ABE-Hex-Oil-EA 區分層可能成分.....	47
表 08 ABE-Hex-Oil-MeOH 區分層可能成分.....	48
表 09 ABE-Hex-Fat-EA 區分層可能成分.....	54
表 10 ABE-Hex-Fat-MeOH 區分層可能成分.....	55
表 11 ABE-Hex-NS 區分層可能成分.....	58
表 12 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層可能成分.....	80
表 13 ABE-Hex 成分機能性文獻整理.....	84



## 壹、前言

惡性腫瘤為目前世界各國主要死因之一，世界衛生組織將其列為二十一世紀的三大殺手之一。台灣自民國71年以來，惡性腫瘤更是位居國人十大死因排名之首，其死亡率之高令人不容忽視。惡性腫瘤的形成涉及多重步驟，可粗略分成起始期 (initiation)、促進期(promotion)與進展期 (progression)，致癌因子 (carcinogens) 會導致初期腫瘤的發生，並由於腫瘤內微環境 (tumor microenvironment) 的各種因子而導致腫瘤的持續進展，其中發炎反應在近年的研究中顯示，以巨噬細胞為主的發炎細胞，所分泌釋出的發炎反應介質會參與惡性腫瘤的形成步驟、癌細胞增生、存活以及移動作用。因此對於抗發炎物質的開發與研究，有助於發展抗發炎療法來預防及對抗惡性腫瘤的發生。

薏苡 (英文名：adlay or soft-shelled Job's tears) 是禾本科一年生草本植物，學名為 *Coix lachrymal-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf。根據中國傳統藥學典籍本草綱目記載薏苡為上品，是藥食兼備的食材 (李，1578)，於中國與日本自古就在傳統醫學與民間療法中被廣泛的使用。目前在台灣、中國大陸與日本已有多種以薏苡為原料的藥物與保健食品在市場上銷售。在日本學者早期的研究中發現，薏苡於動物實驗模式具有抑制腫瘤之功效，於體外實驗也發現可抑制鼻咽癌的致癌因子：Epstein-Barr virus (Tokuda et al., 1990)。而近年也有越來越多學者發表薏苡籽實萃取物、薏仁油脂、薏仁加工食品均具有抑制癌細胞生長、轉移和抗腫瘤之功效，且帶有麩皮的薏仁較精白薏仁效果為佳(黃，1996；江等，2000；施，2004)。在薏仁抗腫瘤的研究中，中國大陸學者使用超臨界二氧化碳萃取薏苡籽實所得到的油狀成分，以針劑方式施打於實驗動物後發現，可有效抑制腫瘤生長並延長其壽命(李等，1994；李，1996)，在中國大陸與俄羅斯已被允許應用於臨床醫療上(Li et al., 2001; Qian et al., 2004)，具有抗腫瘤與抗惡質化之功效，該學者更進一步發現，此油狀萃取物之主要成分為三酸甘油酯(Li, et al., 1999)，因此可以推測薏苡中之有效抗癌成分可能來自於富含油脂的麩皮。

薏苡麩皮的油脂含量高達25%，其萃取物多為油脂成分，但針對此主要成

分，除少數文獻外，鮮少研究其組成分、物理化學特性以及生理功效，且利用傳統之管柱分離純化，難以分析其微量成分，因此本實驗之目的在於研究台灣本土栽植之薏苡仁麩皮（台中選育四號）萃取物之低極性區分層（薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層）的組成分分析，利用氣相層析質譜分析儀，期能全面並廣泛的了解薏仁麩皮中，除了中性油脂 (neutral lipid)外，還存在著哪些有機物質。除此之外，亦同時進行化學分離純化配合高效薄層層析、半製備型高效液相層析等方法，進行純化合物的分離期能建立低極性物質之有效分離純化方法。



## 貳、文獻整理

### 一、癌症

#### (一) 癌症的發生與癌症化學預防

癌症為目前世界各國主要死因之一，如何有效對抗癌症已成為現今醫、藥、學界所共同努力之目標。由於癌症的形成與環境中一些致癌因子 (carcinogens)，例如：化學性、物理性或病毒侵入等的接觸有關聯，因此一般認為癌化過程 (carcinogenesis) 涉及多重步驟，其中包括(1)起始期 (initiation)：涉及胞內、胞外之連鎖反應而由致癌因子造成DNA 受損所致；(2)促進期 (promotion)：腫瘤細胞之增生與累積導致先期腫瘤之生成；以及(3)進展期 (progression)：腫瘤侵犯性成長並可能經由血液或淋巴系統擴散或轉移 (metastasis) 到身體其他區域，而在新的位置繼續形成腫瘤。為了有效地對付癌症之發展或避免癌症之發生，癌症化學預防 (cancer chemoprevention) 的概念首度在1976 年由 Michael Sporn 等學者 (Sporn, 1976) 提出。

癌症化學預防現在一般的定義為：利用單一或多重之天然或合成的化合物組合之使用來達到預防、阻斷、抑制或逆轉癌化作用或過程，藉此減少癌症形成的危險因子或減少癌症復發的機會(Soria et al., 2003)。據此，癌症化學預防在臨床上施行的策略大約考慮三個方向：(1) 針對具致癌高危險因子 (如：帶有易患腫瘤之基因突變者、有癌症家族史，或是長期吸菸者) 之健康受試者進行預防；(2) 針對處於癌前病變階段 (如：口腔白斑症與大腸腺瘤) 進行逆轉與預防之作用；(3) 減少癌症治療後復發之情形以及次發性腫瘤 (secondary tumor，如：癌轉移) 之發生(Tsao et al., 2004)。

目前最盛行的抗癌基礎研究或臨床試驗為標靶治療法 (target therapy)。針對直接導致癌症產生或是促進癌症發展的位置作專一性阻斷 (specific inhibition)，進而抑制癌症之發生與惡化(Jordan, 2007)。其作用方式包括抑制標的基因、蛋白質分子、作用酵素或是標靶接受體等位置的反應，例如：針對帶荷爾蒙受體 (estrogen receptor) 的乳癌患者進行荷爾蒙療法。經臨床實驗證實，

Tamoxifen (一種非固醇類抗雌激素) 的給予可降低乳癌再發機會並明顯提高存活率(Park et al., 2009), 故被認為是一種有效的乳癌化學預防策略。然而, 此種荷爾蒙療法所伴隨的副作用亦相當廣泛, 因此尋求不同形式之癌症化學預防策略與藥物或食品添加物為一近年蓬勃發展之科研領域。

## (二) 發炎反應與癌症形成及發展之關係

除了致癌因子之外, 近來許多的研究顯示長期發炎反應 (inflammation) 是腫瘤持續進展的關鍵因素之一 (Coussens and Werb, 1996)。由於目前瞭解到腫瘤內微環境 (tumour microenvironment) 是由許多組成份形成的複合體, 其中又以巨噬細胞 (tumor associate-macrophage) 為主之發炎細胞所組成, 此類細胞所分泌釋出的發炎反應介質會參與癌化的形成步驟、癌細胞增生、存活以及移動作用。根據目前兩種與發炎反應有關的癌症小鼠基因剔除動物實驗模式指出, 基因轉錄因子 NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) 以及發炎介質腫瘤壞死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha, TNF- $\alpha$ ) 和癌症的繼續發展形成有極大之關係, 分別剔除此二基因可以降低癌症的罹患率, 其中又以 NF- $\kappa$ B 在發炎反應與癌化過程中扮演重要的角色 (Gupta et al., 2007)。NF- $\kappa$ B 可以在癌細胞以及與癌細胞相關聯的發炎細胞中受到活化而啟動訊號路徑並促進癌化作用。此外, NF- $\kappa$ B 可調控發炎介質環氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 與誘導型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthases, iNOS), 對這些重要標的分子深入的瞭解有助於發展抗發炎療法來預防與對抗癌症之發生。

近年來有大規模的臨床試驗即針對抑制發炎作用的方式來尋找優良的癌症預防藥物。這些研究大部分以非類固醇類之抗發炎藥物 (non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID), 如: aspirin 或 celecoxib 等類似功能為篩選新藥物成份的目標, 其中可選擇性地抑制 COX-2 之表現與活性者為其中之主要藥物發展的目標 (Ulrich et al., 2006)。COX-2 目前已知與多種腫瘤之形成有正相關, 如大腸癌、乳癌、攝護腺癌及胃癌等, 然而, 此類抗發炎藥物可能造成之心血管疾病等副作用, 是必須注意的問題 (Cuzick et al., 2009)。

目前針對尋找具抗、防癌生物活性成分的標的作用機制包括：鑑定具(1)抗發炎活性的化合物如：COX-2 抑制劑；(2)直接抑制癌細胞活性，如：增生 (proliferation)、生長週期遲滯 (cell-cycle arrest) 與誘導凋亡 (apoptosis) 等 (Sun et al., 2004)；(3)抑制腫瘤轉移的研究，例如：減少細胞間以及細胞與組織之間的黏附作用 (adhesion)、阻止癌細胞移行作用或侵犯能力、阻斷腫瘤血管新生 (angiogenesis) 以及抑制癌細胞產生免疫逃脫 (immune escape) 等 (Muller et al., 2005)，目前也成為研究癌症化學預防作用機制之重要標的。由於植物化合物種類的豐富性與多樣化，一直在抗癌藥物的研發上提供重要的資源與契機。根據最新的統計資料顯示，自1940 至2006 年間，所有的抗癌藥物中，天然物 (natural product) 及其衍生物至少佔 50% (Newman and Cragg, 2007)。其中相當著名的抗癌植物化合物如：在1970年代由學者Wall 與Wani 的研究團隊自中國原生種的喜樹 (*Camptotheca acuminata*) 分離所得之喜樹鹼 (camptothecin) 以及太平洋紫杉 (*Taxus brevifolia*) 的紫杉醇 (paclitaxel) (Wall and Wani, 1995)。喜樹鹼為大腸癌有效的化學預防藥物，而紫杉醇則用於對抗乳癌或卵巢癌的重要化學治療藥物。

## 二、薏苡

### (一) 薏苡簡介

薏苡為禾本科 (Gramineae) 一年生草本植物，學名為 *Coix lachrymal-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf，英文名為 adlay 或 soft-shelled job's tears，在不同地區有不同之別名，如在日文名為鳩麥，其他如薏珠子、草珠子等 (黃等，1994)。薏苡為淺根系作物，可分作野生種與栽培種兩個變種群，兩者之間的差異在於種子的成分與外型，前者種子胚乳較具稜性，後者則偏糯性。栽植上，薏苡生長期間耐乾旱兼耐浸水，因此在乾旱地區可栽植，於水稻栽植地，也可利用水稻育苗方式栽種、插秧機插植及水稻收穫機收穫，適合水田栽培。

薏苡於台灣本省的栽植狀況，台中區農業改良場自民國六十九年開始進行薏

苽之栽培試驗並輔導農民轉作以來，截至今日，栽培遍及南投縣草屯鎮、彰化縣二林鎮、台中縣大雅鄉、嘉義線朴子鎮等地，於中南部地區栽培面積計約有200公頃。目前市面上可見之苽仁，部分為外國進口顆粒較大淡無光澤，省產者顆粒細小飽滿且兼具光澤(黃等，1994)。

苽籽實是苽植株主要之利用部分，結構上可分成四個部分(圖1)，籽實最外層為苽殼(adlay hull)是堅硬之保護構造，在殼的內裡有一層薄薄的種皮(testa or seed coat)，把苽殼去除的同時也會一併將種皮脫去而得到糙苽仁(dehulled adlay)，一般又稱作紅苽仁，糙苽仁再經碾白去除麩皮(bran)後即為精白苽仁(polished adlay)。省產苽籽實各部分之重量百分比為苽殼35.8%、種皮6.8%、麩皮4.3%、精白苽仁53.1%(黃和江，1999)。

## (二) 苽成分

苽仁含有豐富的蛋白質與脂質，黃等(1994)曾分析苽籽實各部分的一般組成(表1)，其中可發現麩皮油脂含量高達24.4%，是苽籽實主要的油脂來源，另外苽仁亦富含有多種營養成分，如維生素B1、B2、菸鹼酸、膳食纖維、磷、鈣、鉀、鎂、鐵等礦物質等(Duke, 1992；高和梁，1996；黃等，1994)

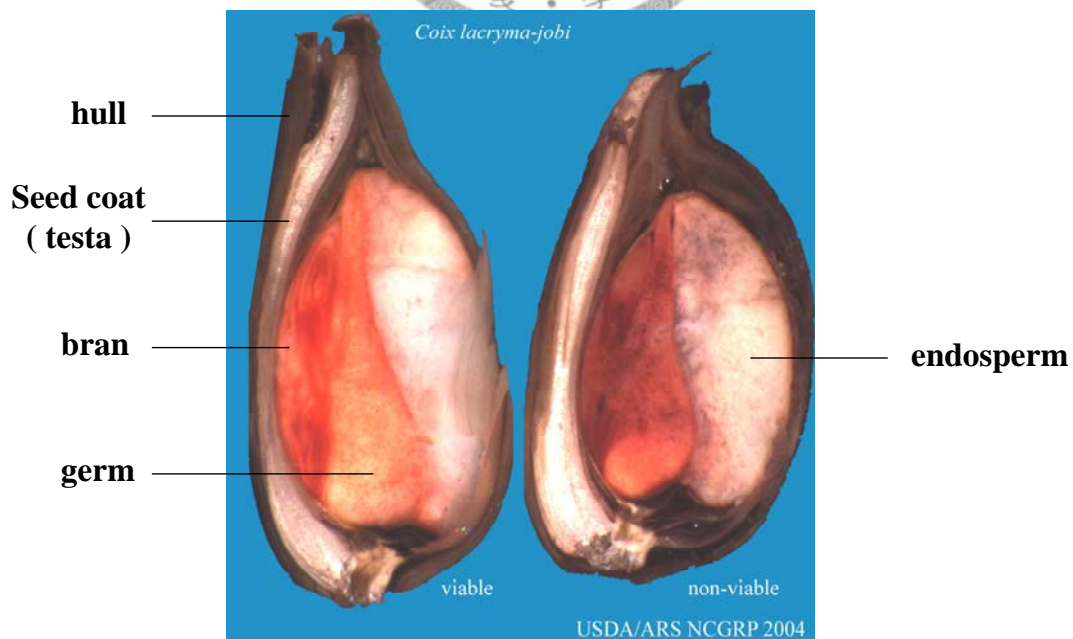


圖 1. 苽籽實剖面圖

Figure 1. Sectional view of adlay seed

(USDA / ARS NCGRP, 2004)

表 1. 薏苡籽實及其不同部位之一般組成\*

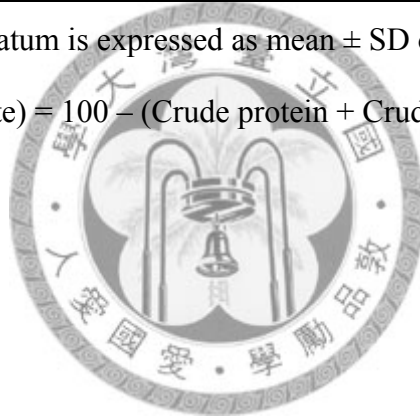
Table 1. Proximate compositions of whole grain adlay and its different parts\*

Material	Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	T.C.**
Whole grain adlay	7.2±0.4	17.3±0.2	6.4±0.3	6.3±0.0	70.1±0.4
Adlay hull	5.2±0.1	8.0±0.3	2.0±0.4	11.7±0.1	78.3±0.5
Adlay testa	7.2±0.1	11.9±0.3	2.9±0.2	7.2±0.3	78.0±0.3
Dehulled adlay	9.1±0.4	21.3±0.2	8.3±0.3	2.1±0.1	68.3±0.2
Adlay bran	10.0±0.2	18.5±0.2	24.4±0.1	7.0±0.0	50.1±0.1
Polished adlay	10.6±0.4	21.9±0.2	2.9±0.2	1.9±0.1	72.9±0.3

\* Unit : wt%, db. Each datum is expressed as mean ± SD of four replications

\*\* T.C. (Total carbohydrate) = 100 - (Crude protein + Crude fat + Ash)

(黃等, 1994)





### (三) 薏仁成分分析文獻回顧

Han 等(1987)針對薏仁中極性油脂(polar lipid)的分析，發現 glycolipid 和 phospholipid 在糙薏仁和精白薏仁中分別佔有 0.44%、0.11%與 0.14、0.04%，其中的主要成分為 monogalactoyl diglyceride & esterified sterol glycoside 以及 phosphatidyl choline、phosphatidyl ethanolamine，並分析其脂肪酸組成主要為次油酸、亞麻油酸與棕櫚酸。Han 等(1988)進一步針對精白薏仁油脂進行分析，發現精白薏仁中油脂約佔乾重的 3.7%，其中 87.3%為 neutral lipid，glycolipid 和 phospholipid 則各為 8.4%與 3.5%，neutral lipid 中三酸甘油酯為主要成分(90.6%)。Woo 等(1989)比較薏仁不同部位膳食纖維含量、胺基酸與脂質成分，精白薏仁、糙薏仁與薏仁麩皮其膳食纖維含量分別為 2.70%、3.86%與 13.3%；胺基酸中 glutamic acid 含量最豐 3460~3822mg / 100g sample，tryptophan 含量最少僅有 71~87mg / 100 g sample；油脂中的脂肪酸組成為 41~49%油酸，36~40%亞麻油酸與 14~18%棕櫚酸。沈等(1991)利用超臨界流體色層分析對薏仁油脂的分離測定中發現其主要的脂肪酸組成為油酸 42.9%、亞麻油酸 38.3%與棕櫚酸 14.0%，且主要的三酸甘油酯種類為三油酸甘油酯。黃與江(1999)以乙醚萃取糙薏仁油脂，分析其脂肪酸組成，主要為三種脂肪酸：油酸(48.22%)、亞麻油酸(33.59%)與棕櫚酸(13.95%)，另比較帶殼薏仁與脫殼之糙薏仁所萃取油脂酸價與過氧化價之差異，兩者過氧化價相仿(4.3meq./kg oil)，但酸價帶殼薏仁為 7.9 mg KOH / g oil，糙薏仁為 18.1 mg KOH / g oil。雷等(1999)以超臨界萃取薏仁油脂分析其脂肪酸組成主要為四種脂肪酸，其相對含量為油酸 47.38%、亞麻油酸 31.42%、棕櫚酸 19.00%與硬脂酸 2.20%。李等(1999)針對具抗癌活性之薏仁油脂產品分析之結果，指出其主要成分為三酸甘油酯(91.48 ± 3.43%)，平均分子量為 870.97，另含有雙酸甘油酯 1.47±0.63%±3.19%，其脂肪酸為棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸與油酸，四者比例為 13.3%、1.1%、48.4%與 37.2%。Tanaka 與 Takatsuto (2001)分析薏仁脂質中植物固醇之含量，sitosterol 為其主要的植物固醇種類，佔有 50%以上其次為 sitostanol、stigmasterol、campesterol 與 campestanol。Huang 等(2005)以擠

壓薏仁麩皮取其油脂，以管柱法分析其油脂組成其中三酸甘油酯為主要成分，佔 90.60%，1.43%雙酸甘油酯、4.36%單酸甘油酯與 3.78%游離脂肪酸。向等(2005)利用 HPLC-MS 分析薏苡仁油中的三酸甘油酯成分，共鑑定出十二種三酸甘油酯，其中含量大於 3%的有：三亞麻油酸甘油酯(6.4%)、二亞麻油酸油酸甘油酯(17.1%)、棕櫚酸二亞麻油酸甘油酯(6.9%)、亞麻油酸二油酸甘油酯(17.4%)、棕櫚酸亞麻油酸油酸甘油酯(13.5%)、三油酸甘油酯(19.0%)、棕櫚酸二油酸甘油酯(10.6%)。Wu 等(2007)利用熱回流方式以正己烷萃取薏仁麩皮丙酮萃取物之油脂，製備此油脂之非皂化物，並以 GC / MS 分析其生理活性成分，發現含有 policosanol(246 mg/kg)、oleamide(45.8 mg/kg)、squalene(82.4 mg/kg)、tocopherol(227 mg/kg)以及數種 phytosterol(total phytohenol 4733 mg/kg)。

Ukita 和 Tanimura (1961) 發現薏仁的丙酮萃取物可有效的延長腹腔注射 sarcoma-180 之小鼠壽命，並從中分離出有效成分為薏仁酯 (coixenolide)，因此初步研判其抑癌之有效成份乃來自於薏仁中低極性之區分層。Tokuda 等 (1990) 指出薏仁的甲醇萃取物可抑制小鼠 papilloma，且指出其有效成分為一單酸甘油酯  $\alpha$ -monolinolein。Yoshikazu 等 (1987) 發現薏仁正己烷萃取物具有促進 Gold hamster 卵巢濾泡細胞生長與刺激排卵的激素調控，並分離出有效成分 3-*O*-feruloyl-5 $\beta$ -sitostanol。Numata 等 (1994) 發現薏仁的丙酮萃取物可抑制小鼠 sarcoma-180 增殖，其有效成分分析發現具有棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、油酸這四種脂肪酸組成。

#### (四) 薏苡之機能性

薏仁於本草綱目中記載：「健脾益胃，補肺清熱，去風去濕」。薏苡仁可健脾利濕，清熱排膿消癰，祛風濕。筋脈拘攣、屈伸不利、濕痺、腳氣水腫、白帶、小便不利、肺癰、淋濁。薏苡仁有滲濕、健脾是其兩大功能，利水滲濕以治小便不利，除濕利痺以治濕滯痺痛。且能健脾止瀉，又能排膿消癰之效，性屬和平，滲而不峻，補而不膩。乃清補淡滲之品，唯藥力和緩，且質地較重，故用量須加倍於他藥。另茯苓與薏苡仁均為甘淡平和之藥，滲濕健脾之品，惟茯苓兼入心經，具有寧心安神作用，又可用于化除痰飲；薏苡仁則具有排膿、消癰之效，又為治濕消痺常用之藥…… 薏苡仁陽明藥也，能健脾，益胃。虛則補其母，故肺痿肺癰用之。筋骨之病，以治陽明為本，故拘攣筋急，風痺者用之。土能利水除濕，故泄痢水腫用之。」。在中國與日本的民間療法中，薏仁一直被認為具有輕身、健脾、補肺、益胃、利尿、清熱、利濕、消炎、陣痛、去風濕、驅蟲、強筋骨、抗痙攣、止消渴、治腳氣、美容、抗腫瘤等功效。除傳統醫學之記載外，近年來也有越來越多科學研究對薏仁之機能性展開驗證。

研究室自民國七十八年開始致力於薏苡保健食品之研發工作，以薏苡籽實為主要研究材料，針對不同部分之區分物（包括薏苡殼、種皮、麩皮、糙薏仁與精白薏仁）或加工產品作細部探討。現階段的研究結果顯示，薏苡籽實對於抑制腫瘤、抗發炎、抗致突變、抗過敏、調節血脂、改善腸道菌叢、清除體內自由基、調節血糖及內分泌等生理功效，均具有正面的調節作用（黃，1996；蔡，1997；簡，1998；林，1999；劉，2000；夏，2001；郭，2001；葉，2002；施，2004；李，2008）。而近年開始有中外學者針對薏苡籽實各部位的特殊生理機能來進行植物化學活性成分( phytochemicals )的分離鑑定，截至目前的研究已有許多具生理活性之成分被陸續分離出來，如表2（李，2008）。

表 2. 薏苡中的植物化學成分

Table 2. phytochemicals of adlay

Compound from adlay bran	Classification	Adlay fraction	Reference
adenosine	nucleotide	Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1988
3 $\beta$ -benzyl-6 $\alpha$ -isopropyl-4-methylmorpholine-2,5-dione		Hull	簡, 1998
camperstanol	steroid	Seed	Kondo <i>et al.</i> , 1988
campersterol	steroid	Seed	Kondo <i>et al.</i> , 1988
cerebrosides	sphingolipids	Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988
<i>trans</i> -coniferylaldehyde	phenolic aldehyde	Hull	簡, 1998
colcin (coixin)	protein	Polished adlay	吉田等, 1919
coixamide		Testa	林, 1999
coixan A, B, C	polysaccharide	Polished adlay	Takahashi <i>et al.</i> , 1986
coixenolide		Hull, testa, bran, polished adlay	Ukita & Tanimura, 1961; 黃, 1996
coixinden A,B		Germinated adlay	石黑等, 1993
coixinic acid	fatty acid	Polished adlay	松島等, 1952
coixol	benzoxaninoid	Hull, testa, root	小山和大和, 1955; Nagao 等, 1985; 簡, 1998; 林, 1999
coniferyl alcohol		Hull	郭, 2001
<i>trans</i> - <i>p</i> -coumaric acid		Hull	郭, 2001
<i>p-trans/cis</i> -coumaric acid	phenolic acid	Hull	劉, 2000
cycloart-23(Z)-ene-3 $\beta$ ,25-diol	steroid	Testa	林, 1999
1,3- <i>O</i> -diferuloylglycerol		Hull	郭, 2001
dehydrodicconiferyl alcohol	lignan	Hull	劉, 2000; 郭, 2001
3,4-dihydroxybenzaldehyde	phenolic aldehyde	Seed	鈴木與奧山, 1977
3,4-dihydroxybenzaldehyde glycolide	phenolic aldehyde	Polished adlay	鈴木與奧山, 1977
5,7-dihydroxychromone		Hull	劉, 2000
digalactosyl diglyceride		Dehull adlay	鄭等, 1988; Han <i>et al.</i> , 1988
3,3-dimethoxy-biphenly-4,4-diol		Hull	簡, 1998
2,6-dimethoxy- <i>p</i> -hydroquinone	quinone	Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989
2,6-dimethoxy- <i>p</i> -hydroquinone-1- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	quinone	Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989
5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxy-24(S)-methylcholesta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol	steroid	Hull	簡, 1998
ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one	steroid	Hull	簡, 1998
ergosten-(5)-ol-(3 $\beta$ ) <i>cis/trans</i> -Feruloyl	steroid	Seed	Kondo <i>et al.</i> , 1988
phytosterol glycolipid			
ergosterol peroxide	steroid	Hull	簡, 1998
esterified steryl glycosides		Dehull adlay	鄭等, 1988; Han <i>et al.</i> , 1988
fatty alcohols		Testa	林, 1999

續 ( continued )

表 2. 薏苡中的植物化學成分 (續)

Table 2. phytochemicals of adlay ( continued )

Compound from adlay bran	Classification	Adlay fraction	Reference
Ferulic acid		Hull	郭, 2001
<i>trans</i> -feruloyl campestanol	steroid	Polished adlay	Kondo <i>et al.</i> , 1988
<i>trans</i> -feruloyl stigmastanol	steroid	Polished adlay	Kondo <i>et al.</i> , 1988
glucan	polysaccharide	Dehull adlay	Yamade <i>et al.</i> , 1986
2- <i>O</i> - $\beta$ -glucopyranosyl-4,7-dimethoxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one	benzoxaninoid	Root	Nagao <i>et al.</i> , 1985
2- <i>O</i> - $\beta$ -glucopyranosyl-7-hydroxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one	benzoxaninoid	Root	Nagao <i>et al.</i> , 1985
2- <i>O</i> - $\beta$ -glucopyranosyl-4-hydroxy-7-methoxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one	benzoxaninoid	Root	Nagao <i>et al.</i> , 1985
2- <i>O</i> - $\beta$ -glucopyranosyl-7-methoxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one	benzoxaninoid	Root	Nagao <i>et al.</i> , 1985
4-hydroxyacetophenone	phenolic ketone	Testa	林, 1999
$\alpha$ -hydroxyacetovanillone		Hull	郭, 2001
<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	phenolic aldehyde	Hull, testa	簡, 1998; 林, 1999; 郭, 2001
1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)propane-1,2,3-triol		Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989
3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propan-1-one	phenolic ketone	Hull	劉, 2000
3-hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)propan-1-one	phenolic ketone	Hull	劉, 2000
5-hydroxyindole-3-carbaldehyde		Hull	劉, 2000
2-hydroxy-7-methoxy-1,4(2H)benzoxazin-3-one	benzoxaninoid	Root	Nagao <i>et al.</i> , 1985
$\omega$ -hydroxypropionguaiacone		Hull	郭, 2001
3 $\beta$ -hydroxystigmast-5-en-7-one	steroid	Hull, testa	簡, 1998; 林, 1999
isatonic anhydride		Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989
4-ketopinoresinol	lignan	Hull, root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989; 簡, 1998; 郭, 2001
lariciresinol	lignan	Hull	劉, 2000
linoleic acid	fatty acid	Polished adlay	Numata <i>et al.</i> , 1994
long chain alkanes		Testa	林, 1999

續 ( continued )

表 2. 薏苡中的植物化學成分 (續)

Table 2. phytochemicals of adlay ( continued )

Compound from adlay bran	Classification	Adlay fraction	Reference
lysophosphatidyl choline	phospholipid	Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988
manganase		Seed	Duke, 1992
mayuenchinol		Hull	郭, 2001
mayueninol		Hull	郭, 2001
mayuenolide	lignan	Hull	簡, 1998; 郭, 2001
6-methoxy-benzoxazolon myristic acid	fatty acid	Seed	Duke, 1992
methyl 9-acetoxynononoate		Hull	郭, 2001
methyl azlate		Hull	郭, 2001
methyl palmitate	fatty acid	Testa	林, 1999
monogalactosyl diglycerides		Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988; 鄭等, 1988
$\alpha$ -monolinolein		Polished adlay	Tokuta <i>et al.</i> , 1990
narigenin	flavonoid	Hull	劉, 2000; 郭, 2001
neutral lipid		Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988; 鄭等, 1988
oleic acid	fatty acid	Polished adlay	Numata <i>et al.</i> , 1994
<i>cis</i> -8-octadecenoic acid	fatty acid	Seed	Duke, 1992
palmitic acid	fatty acid	Polished adlay, testa	Numata <i>et al.</i> , 1994; 松島等, 1952; 林, 1999
palmitosyl campesterol	steroid	Polished adlay	Kondo <i>et al.</i> , 1988
palmitosyl $\beta$ -sitosterol	steroid	Polished adlay	Kondo <i>et al.</i> , 1988
phosphatidyl choline	phospholipid	Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988; 鄭等, 1988
phosphatidyl ethanolamine	phospholipid	Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988; 鄭等, 1988
phosphatidyl inositol	phospholipid	Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988; 鄭等, 1988
phosphatidyl serine	phospholipid	Dehull adlay	Han <i>et al.</i> , 1988; 鄭等, 1988
phytin		Seed	Duke, 1992
saponin	saponin	Seed	Duke, 1992
sinapaldehyde	phenolic aldehyde	Hull	簡, 1998; 郭, 2001
$\beta$ -sitosterol	steroid	Polished adlay, hull, seed	簡, 1998; 林, 1999
$\beta$ -sitosterone	steroid	Hull, testa	簡, 1998; 林, 1999
$\beta$ -sitosteroyl-3- <i>O</i> -D-glucopyranoside	steroid	Hull	簡, 1999
stearic acid	fatty acid	Hull	Numata <i>et al.</i> , 1994
steroly campesterol	steroid	Polished adlay	Kondo <i>et al.</i> , 1988
steroly $\beta$ - sitosterol	steroid	Polished adlay	Kondo <i>et al.</i> , 1988
steryl glycosides		Polished adlay	Han <i>et al.</i> , 1988

續 ( continued )

表 2. 薏苡中的植物化學成分 (續)

Table 2. phytochemicals of adlay ( continued )

Compound from adlay bran	Classification	Adlay fraction	Reference
stigmasterol	Steroid	Dehull adlay	Duke, 1992; 簡, 1998; 林, 1999
syringaldehyde	phenolic aldehyde	Seed, hull, testa	簡, 1998; 林, 1999; 郭, 2001
syringaresinol		Hull	郭, 2001
syringic acid		Hull	郭, 2001
<i>erythro</i> -1- <i>C</i> -syringyl glycerol		Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989
<i>threo</i> -1- <i>C</i> -syringyl glycerol		Root	Otsuka <i>et al.</i> , 1989
tricin	flavonoid	Hull	劉, 2000; 郭, 2001
trypsin inhibitor	protein	Seed, bran, polished adlay	Ary <i>et al.</i> , 1988; Ohtsubo <i>et al.</i> , 1985
vanillic acid	phenolic acid	Testa	林, 1999
vanillin	phenolic aldehyde	Hull, testa	簡, 1998; 林, 1999; 郭, 2001



#### (五) 薏仁油脂之機能性研究

糙薏仁中粗脂肪約占有8%，薏仁麩皮更高達25% (黃，1994)，因此其萃取物大部分均為油脂成分，亦稱其為薏仁油脂。近年來越來越多文獻指出，薏仁萃取之油狀物質具有良好之抗癌功效，茲整理如下：Ukita 和 Tanimura (1961) 發現薏苡的丙酮萃取物可有效的延長腹腔注射sarcoma-180之小鼠壽命，並從中分離出有效成分為薏仁酯 (coixenolide)(圖2)，因此初步研判其抑癌之有效成份乃來自於薏苡仁中低極性之區分層。Tokuda等 (1990) 指出薏苡的甲醇萃取物可抑制小鼠papilloma，且指出其有效成分為一單酸甘油酯  $\alpha$ -monolinolein (圖3)。Numata等 (1994) 發現薏仁的丙酮萃取物可抑制小鼠 sarcoma-180增殖，其有效成分分析發現具有 palmitic acid、stearic acid、oleic acid、linoleic acid 這四種脂肪酸組成。李等 (1994) 以超臨界二氧化碳提取薏仁所得之製劑可抑制小鼠 sarcoma-180及肝癌 H22細胞。黃 (1996) 發現飼料添加薏仁油脂可增加腹腔注射 sarcoma-180之小鼠延命率。李 (1996) 發現薏仁油脂乳化注射劑對原發性肺癌患者的治療效果顯著。李等 (1996) 發現薏仁油脂乳化注射劑可抑制 lewis lung carcinoma、W256 carcinoma、melanoma B16。徐 (1998) 以含薏仁油脂之飼料餵食小鼠，發現可抑制 sarcoma-180。Woo等 (2007) 薏仁油脂乳化注射劑可抑制 MDA-MB-231 breast cancer cells 和 H460 human lung cancer cells，並於細胞實驗中發現，以基因晶片檢測其具有抑制部分與促癌蛋白質相關基因的表現。表3為薏苡仁油脂機能性文獻整理。



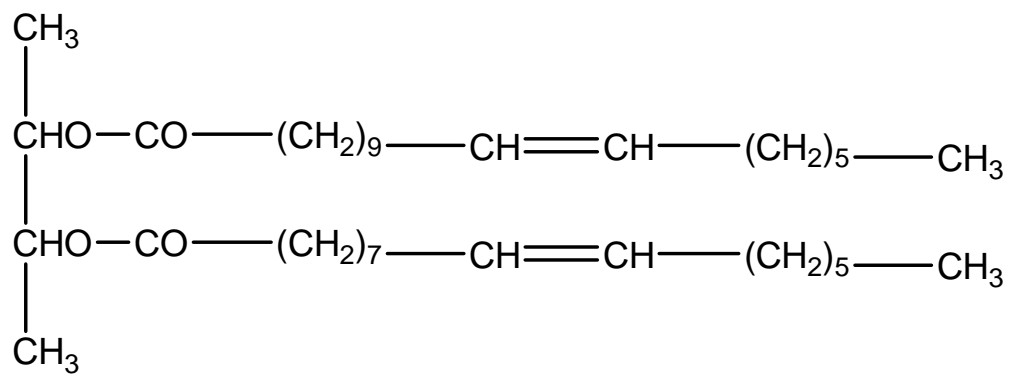


圖 2. 薏仁酯

Figure 2. coixenolide

(Tanimura, 1961)

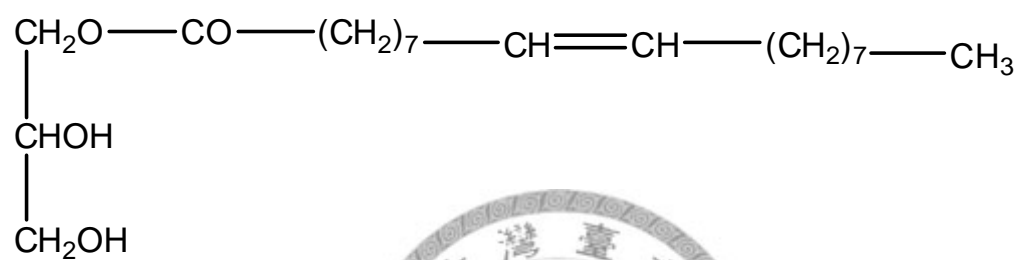


圖 3.  $\alpha$ -monolinolein

Figure 3.  $\alpha$ -monolinolein

(Tokuda et al., 1990)



表 3. 薏苡仁油脂機能性之文獻整理

Table 3. Function of adlay oil

Model	Adlay used	outcome	Reference
Rat (Yoshida sarcomas)	Adlay acetone extract	Tumor inhibition	六城等，1950
Rabbit	Dehulled adlay Petroleum ether extract	Anti-hypertention	松島，1952
Mice (Ehrlich ascites carcinoma, EAC)	Adlay ethanol extract	Tumor inhibition	中山，1960
Mice (EAC ; ip)	Adlay acetone extract (ip)	Increased survival time of animals (active component: coixenolide)	Ukita and Tanimura, 1961
ICR mice (Papillomas ; induced by DMBA and TPA)	Methanol extracted	Tumor promotion inhibition (Epstein-Barr virus inhibitor : $\alpha$ -monolinolein)	Tokuda et al., 1990
♀ ICR mice (Sarcoma-180 cells; ip)	Adlay acetone extract (ip)	Increased survival time of animals (active fraction containing : palmitic, stearic, oleic, and linoleic acid)	Numata et al., 1994
♂ & ♀ ICR mice (Sarcoma-180 cells or Hepatoma H22 cells)	Supercritical CO <sub>2</sub> extract of adlay	Tumor inhibition	李等，1994
♂ ICR mice (Sarcoma-180 cells; ip)	Adlay bran acetone extract (feeding)	Increased survival time of animals	黃等，1996
Lung cancer patient	Adlay seed oil emulsion (KangLaiTe injection)	Tumor inhibition	李，1996
♂ BALB/c mice (Sarcoma-180 cells; sc)	Adlay bran acetone extract (feeding)	Tumor inhibition	徐，1998

續(continued)

表3. 薏苡仁油脂機能性之文獻整理 ( 續 )

Table 3. Function of adlay oil ( continued )

Model	Adlay used	outcome	Reference
Mice (Lewis lung carcinoma, W256 carcinoma, melanoma B16) or nude mice (human hepatoma)	Adlay seed oil emulsion (KangLaiTe injection)	Tumor inhibition	李，1996
Nude mice (MDA-MB-231 breast cancer cells and H460 human lung cancer cells)	Adlay seed oil emulsion (KangLaiTe injection)	Tumor inhibition and downregulation of genes expression in neoplasia (ex. COX-2 and matrixmetalloproteinases)	Woo et al., 2007



### 參、研究動機與目的

在中國傳統藥學典籍上記載以及傳統醫學中，薏苡均具有消炎與抗腫瘤的功能(李，1578)，多年來也陸續有研究指出，薏苡籽實及其萃取物確實具有抑制腫瘤生長及增加延命率等生理功效，且證實帶有麩皮之糙薏仁其生理功效較精白薏仁為佳(黃，1996；江等，2000；施，2004)。早年日本學者於薏苡仁中鑑定出之有效成分分別為薏仁酯 $\alpha$ -monolinolein(Tanimura, 1961; Tokuda et al., 1990)，兩者均是屬於低極性之化合物，近年中國大陸學者開發以薏苡仁經超臨界二氧化碳萃取之油狀物質，乳化後製作成針劑，並證實具有抗腫瘤生長與抗惡質化之功效(李等，1994；李，1996)，在中國大陸與俄羅斯已被允許應用於臨床治療之用(Li et al., 2001; Qian et al., 2004)。由此推測，薏苡籽實中之低極性區分層，尤其是富含油脂之薏苡麩皮，含有某些具功能性之活性成分。而針對此部分，至今仍然是所知有限，相當值得探討。

### 肆、實驗目的與架構

本實驗之目的在於研究台灣本土栽植之薏苡仁麩皮(台中選育四號)萃取物之低極性區分層(薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層)的組成分析，利用氣相層析質譜分析儀，配合已知化合物之質譜片段資料庫比對，期能全面並廣泛的了解薏仁麩皮中，除了中性油脂(neutral lipid)外，還存在著哪些成分。除此之外，亦同時進行化學分離純化配合製備型薄層層析、半製備型高效液相層析等方法，進行純化合物的分離。

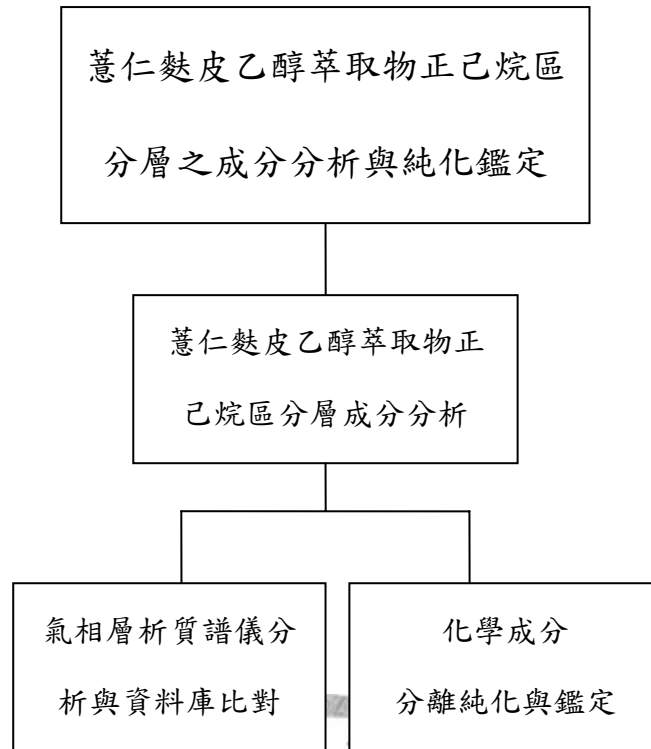


圖 4. 本研究之實驗設計架構圖  
Figure 4. Flow chart of experimental design

## 伍、材料與方法

### 一、實驗材料

#### (一) 薏仁麩皮原料

委請台中縣大雅鄉農民種植台中選育四號(Taichung Shuenyu No. 4, TCS4)，  
薏苡籽實以脫殼機脫殼，並將糙薏仁精白取得麩皮，儲存於4°C備用。

#### (二) 試驗藥品

Acetone (Mallinckrodt chemicals, Phillipsburg, USA)

Chloroform (Mallinckrodt chemicals, Phillipsburg, USA)

Dichloromethane (Mallinckrodt chemicals, Phillipsburg, USA)

Dimethyl sulfoxide (J.T.Baker, Phillipsburg, USA)

Ethyl acetate (Mallinckrodt chemicals, Phillipsburg, USA)

Hexane (Mallinckrodt chemicals, Phillipsburg, USA)

Methanol (Mallinckrodt chemicals, Phillipsburg, USA)

Potassium hydroxide (Sigma, St. Louis, MO, USA)

95 % Ethanol (Uni-onward, Taipei, ROC)

#### (三) 分離純化用品

Capillary column DB-1 HT (Agilent Technology)

HPLC column Luna 5  $\mu$ m silica (2) (150 x 4.6 mm) (Phenomenex®)

Silica gel Si 60 (40-63  $\mu$ m) (Merck, Darmstadt, Germany)

Syringe filter (Micron Separation Inc., Westborough, MA)

Thin layer chromatography plate (TLC silica gel 60 F254 25 aluminium sheets)

(Merck, Darmstadt, Germany)

#### (四) 儀器設備

Aspirator (EYELA A-35, Tokyo, Japan)

Refrigerated Floor Model Centrifuge (BECKMAN J2 – MC centrifuge) (BECKMAN coulter Inc., USA)

Gas chromatography / Mass spectrometer (GC-MS, Hewlett Packard 5890, 5972 Mass Spectrometer) (Agilent, USA)

Hot Plate / Stirrer (NUOVA II, Model PC-520, SYBRON Thermolyne)

High Performance Liquid Chromatography pump (Waters 510) (Waters, USA)

Mass Spectrometer (EI-MS: Jeo l JMS-HX300 Mass Spectrometer)

Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Bruker Avance-500MHz)

Teflon Pump (Vac®V500) (Buchi Labortechnik AG, Switzerland)

Recorder (Kipp & Zonen)

Refractive index detector (RI detector) (IOTA 2)

Rotatory Vacuum Evaporator (EYELA, Tokyo, Japan)

UV Spectrophotometer (Metertek SP-8300, Metertek)



## 二、實驗方法

### (一) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之製備

#### 1. 薏仁麩皮乙醇萃取物 (Adlay bran ethanolic extract, ABE) 之製備

將新鮮薏仁麩皮以十倍量的乙醇 (material : ethanol = 1 : 10)，避光攪拌萃取 24 小時，之後過篩其殘渣同上述步驟浸泡，此步驟重複三次。收集三次的乙醇萃取液減壓濃縮去除乙醇後，得乾燥萃取物，所得粗萃取物保存於-20℃備用。

#### 2. 薏仁麩皮乙醇萃取物之正己烷區分層之製備

萃取物的分離步驟，先以溶劑分配層析的方式進行，其分離方式是將上述的薏仁麩皮乙醇萃取物 (ABE) 進行溶劑區分。取部分薏仁麩皮乙醇萃取物，加入

15 倍量 (w/v) 的 90% 甲醇水 (methanol / water = 90 / 10) 混合均勻，再加入與 90% 甲醇等體積的正己烷 (*n*-hexane)，倒入分液漏斗中，在分液漏斗中攪拌均勻後，待分層，完全分層後分別收集正己烷區分層 (ABE-Hex) 及 90% 甲醇層，收集後之 90% 甲醇層再依上述步驟與 *n*-hexane 分配萃取 2 次，即總共分配萃取反覆三次，後以減壓濃縮將溶劑去除。所得的正己烷區分層，為避免溶劑分層區分不完全而導致殘留過多高極性物質，因此用三倍量 (w/v) 的 60% 乙醇水 (ethanol / water = 60 / 40) 與正己烷再分配萃取一次，將較具極性的物質歸到相對極性高的區分層中。最後將區分層進行分裝，再經過減壓濃縮，蓋上無菌膜，將分裝好的萃取物存於 -20°C 冰箱中備用。使用正己烷層 9640g，經 60% 乙醇水分配萃取後，得 ABE-Hex 層為 9424g，比率為 97.8%。另部分不溶物亦歸於 60% 乙醇水層部分避免高估 ABE-Hex 層之收率。圖 5 為製備流程。

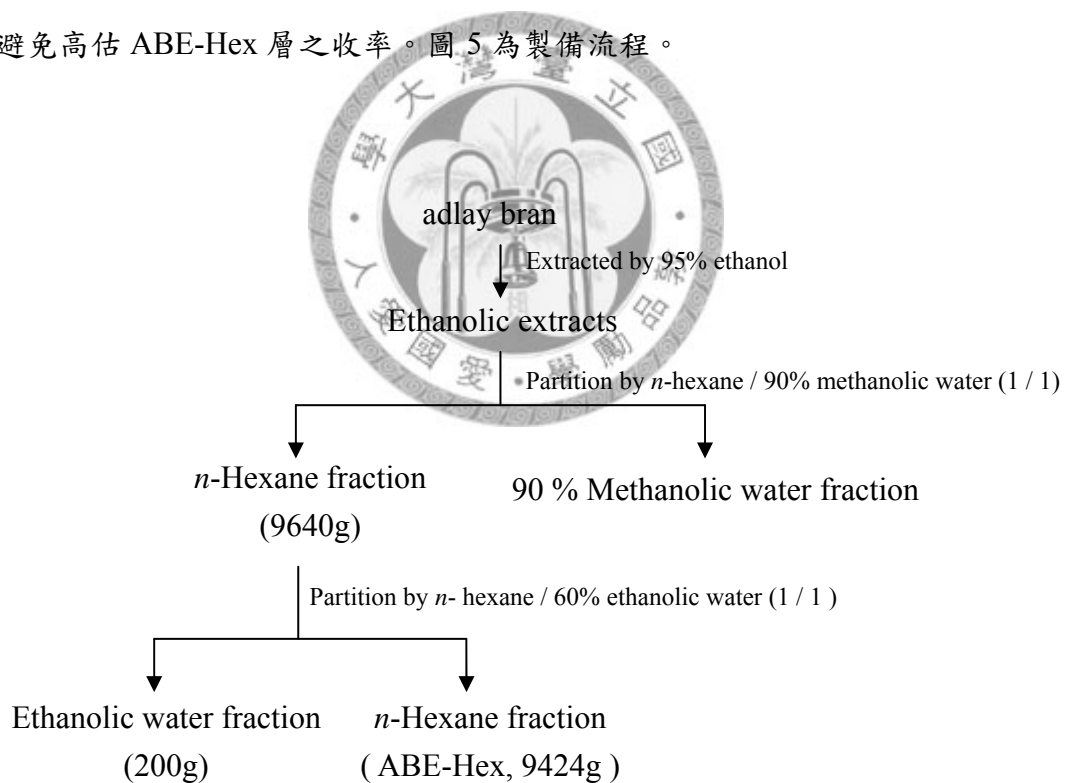


圖 5. 薏仁麩皮乙醇萃取物之正己烷區分層之製備流程圖

Figure 5. The scheme for the preparation of ABE-Hex



## (二) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之不同極性區分層與非皂物之製備

### 1. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化(winterization)處理

取 7105g 之薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層 (ABE-Hex) 置於 4°C，於容器中加入攪拌石予以緩慢攪拌，經 24 小時後取出。冬化後之樣品於 4°C 冷房中分裝於 500 ml 塑膠離心瓶，以 9000 rpm 於 4°C 下離心 15 分鐘。離心後將油脂分為液體油 (ABE-Hex-oil) 與固體脂 (ABE-Hex-fat) 部分。冬化後得液體油 5043g 與固體脂 1961g，回收率為 98.6%。

### 2. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物(non saponifiable matters)之製備

假設薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層為 100% 之三酸甘油酯，假設其分子量為 600，所使用鹼反應藥劑為氫氧化鉀，分子量為 56.1，一分子三酸甘油酯需要三分子氫氧化鉀與其反應，因此推算 1g 油脂樣品約需要 0.28g 之氫氧化鉀與之反應。圖 6 為皂化反應之簡單示意圖。在實際的情況，油脂中並不單純僅僅是三酸甘油酯，另外亦存在其他含有酯鍵可被反應之物質，如單酸甘油酯、雙酸甘油酯、植物固醇酯等等，但其含量與三酸甘油酯相比，相差太大(三酸甘油酯為油脂中主要成分)，固實驗以此假設以方便計算所需藥品量。

精秤薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層 20g，取 5.6g 氫氧化鉀(KOH)溶於適當體積之甲醇，配置為氫氧化鉀甲醇溶液。將薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層加入氫氧化鉀甲醇溶液，以隔水加熱至 80°C 並加入攪拌石攪拌。使其加熱反應一小時後，移除熱源以冰浴冷卻。反應物移至 500 ml 分液漏斗中，以蒸餾水潤洗反應物數次後，加入 100 ml 乙酸乙酯 (ethyl acetate)，震盪使反應物與溶劑混合均勻，接著靜置使其分層，將下方水層漏除，收集有機層 (乙酸乙酯層)。取一乾淨濃縮瓶先行秤重，將有機層以減壓濃縮去除溶劑後，即得非皂化物。因非皂化物含量極少，因此相同實驗將重複三次後計算，結果如表 4 所示。所得之薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物含量為 0.82%。

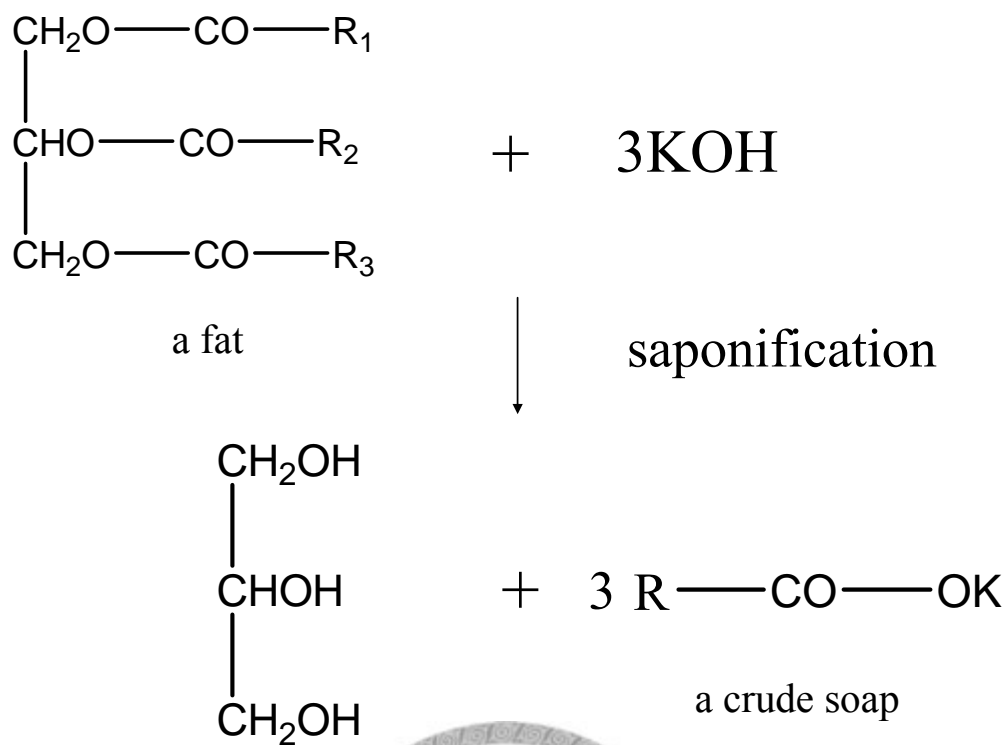


圖 6. 皂化反應

Figure 6. Saponification reactions

表 4. 非皂化物含量與比例

Table 4. The content and percentage of non-saponifiable matter

Experiment	ABE-Hex (g)	非皂化物 (g)	比例 (wt%)
EX1	20.1	0.16	0.81 %
EX2	16.6	0.14	0.86 %
EX3	19.8	0.15	0.78 %

### 3. 以 Flash column 製備薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之不同極性區分層

先將矽膠粉末 (silica gel) 置於烘箱中以 100°C 乾燥 12 小時。乾燥的矽膠粉末，直接乾填於開放式玻璃管柱中，液體樣品亦直接加入充填好之管柱中，樣品與矽膠粉末之比例為 2 : 1，在下方出口部分，加設抽氣裝置，以抽氣馬達加速層析之速度。層析過程中的極性分離分成兩階段，在第一階段，樣品加入後，不加入溶劑沖提，僅靠抽氣力量促使樣品流動，使矽膠吸附樣品中具極性之物質，而收集到純粹為 neutral lipid 的非溶劑沖提次區分層 (non-solvent subfraction, NS subfraction)。第二階段，待非溶劑沖提之部分收集完畢後，使用溶劑依據極性收集不同區分層，極性由低至高分別為：100 % *n*-hexane (Hex subfraction)、10% ethyl acetate / *n*-hexane (10% EA subfraction)、100% ethyl acetate (EA subfraction)、100% methanol (MeOH subfraction)。ABE-Hex-fat 由於常溫下為固態，因此先以 *n*-hexane 溶解為液體後，再進行 flash column 之層析分離，收集的極性層為：100 % *n*-hexane、100% ethyl acetate、100% methanol。各區分層以減壓濃縮去除溶劑後，以樣品瓶盛裝，沖以氮氣後蓋上無菌膜，於-20°C 保存備用。各次區分層之重量分布如表 5 所示。圖 7 為薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之不同極性區分層與非皂物之製備流程圖。

表 5. ABE-Hex flash column 次區分層重量分布

Table 5. Weight distribution of ABE-Hex after flash column absorption

Subfraction	Weight (g)	Wt %
ABE-Hex-Oil ( loading sample: 200 g Recovery: 198.7 g ( 99.35 % ) )		
non solvent	83.4	42.0
<i>n</i> -hexane	83.6	42.0
10 % EA*/ <i>n</i> -hexane	11.0	5.5
EA	17.1	8.6
methanol	3.6	1.9
ABE-Hex-Fat ( loading sample: 100 g Recovery: 98.0 g ( 98% ) )		
<i>n</i> -hexane	87.7	89.5
EA	8.1	8.3
methanol	2.2	2.2

\* EA : Ethyl Acetate

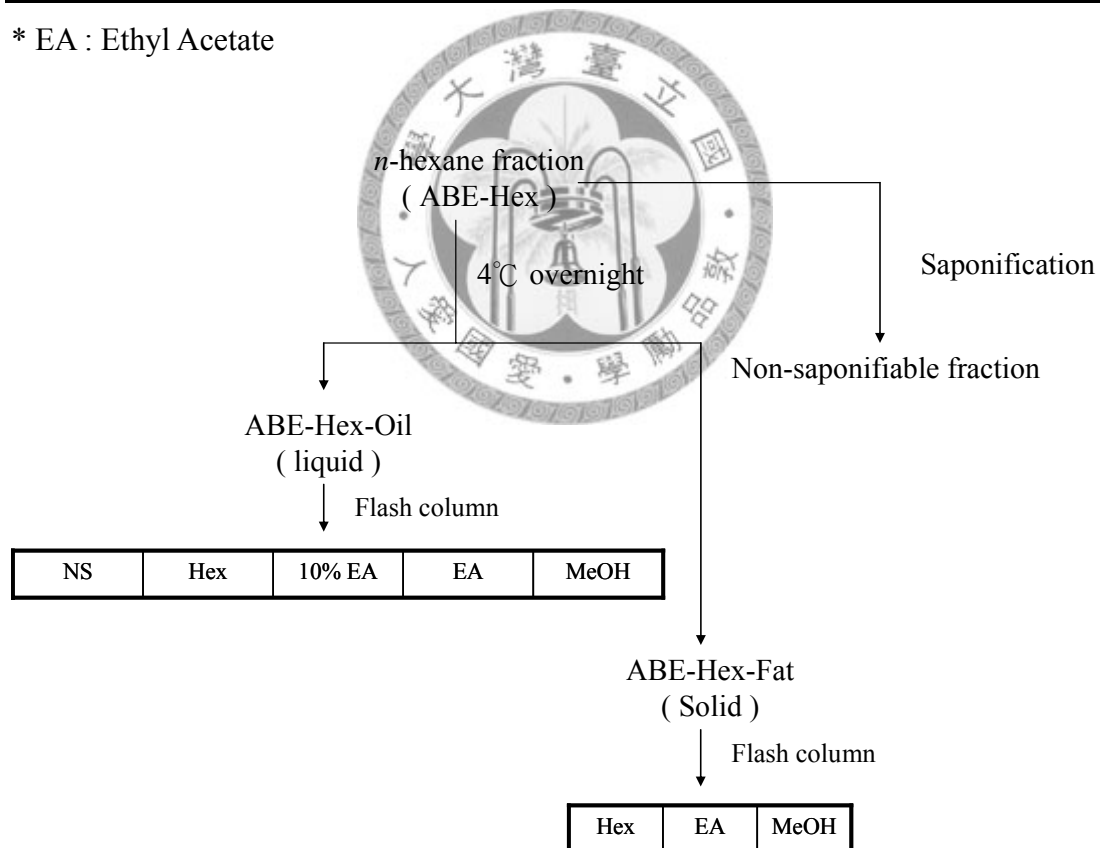


圖 7. ABE-Hex 之不同極性區分層與非皂物之製備流程圖

Figure 7. The scheme for the preparation of ABE-Hex subfractions and non saponifiable matters

### (三) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層氣相層析質譜儀分析

#### 1. 預備實驗

在已發表文獻中並無以氣相層析分析薏仁麩皮萃取物之相關實驗，因此於正式實驗前進行預備實驗以確定氣相層析分析之實驗條件與最佳樣品實驗濃度。在預備實驗部分，挑選 ABE-Hex 與 ABE-Hex-Oil-10% EA 作為預備實驗樣品。

##### (1) 預備實驗儀器設備條件

氣相層析質譜儀 (Gas chromatography / Mass spectrum, GC / MS) Hewlett Packard 5890 / HP 5972 (Agilent, USA)。層析管柱為 DB-1 HT (15m x 0.25mm i.d., 0.1 $\mu$ m film thickness, Agilent, USA) 分析條件如下：注射器 (injector) 溫度設定為 300 $^{\circ}$ C；Transfer line 溫度設定為 350 $^{\circ}$ C；烘箱 (oven) 溫度開始設定為 40 $^{\circ}$ C，以 10 $^{\circ}$ C/min 升溫至 120 $^{\circ}$ C 維持一分鐘；再以 10 $^{\circ}$ C/min 升溫至 350 $^{\circ}$ C 維持五分鐘。載流氣體 (carrier gas) 為高純度氦氣 (99.9995%)。樣品注入採不分流 (splitless mode)。

##### (2) 預備實驗分析樣品濃度

將樣品先以氯仿溶解並配置為 20 mg/ml 之濃度，序列稀釋為 1000  $\mu$ g/ml、500  $\mu$ g/ml、250  $\mu$ g/ml、100  $\mu$ g/ml、50  $\mu$ g/ml。稀釋後之樣品以 0.45 $\mu$ m 過濾膜過濾後，盛裝於 GC 樣品瓶，密封後保存於 4 $^{\circ}$ C 以待分析。以此實驗決定正式實驗時之最佳分析濃度。

##### (3) 預備實驗結果

圖 8 為 ABE-Hex 在高濃度 (1000  $\mu$ g/ml) 下之總離子圖譜，發現即使於高濃度，亦無法有效分析，結果顯示，在三酸甘油酯的干擾下，無法有效分析其他成分。黃等 (2004) 以矽膠管柱法分析壓榨薏仁油脂組成分，三酸甘油酯約為

90.60%，一般油脂三酸甘油酯分子量在750以上，組成為長碳鏈脂肪酸（自然組成多為16、18碳之脂肪酸）與甘油，於一般分析條件下，高溫下無法氣化，並不適用於氣相層析之分析，而三酸甘油酯外的其他有機分子與其相比，比例相對來講太過於低，因此導致 ABE-Hex 無法直接以氣相層析分析，須先行分離。圖9為 ABE-Hex-Oil-10% EA 之分析結果，結果顯示樣品濃度需高於500  $\mu\text{g/ml}$  始有較明顯之訊號，最高濃度之下(1000  $\mu\text{g/ml}$ )，其訊號強度依然未有太強（儀器可偵測之極限於兩倍以上），因此實驗濃度可再提高使部分微量成分也得以比對分析。由預實驗結果，樣品選擇上，採用去除大部分三酸甘油酯部分之區分層，並以2000  $\mu\text{g/ml}$ 為正式實驗之樣品濃度。



圖 8. ABE-Hex (1000  $\mu\text{g/ml}$ ) 總離子圖譜

Figure 8. Total ion chromatography of ABE-Hex (1000  $\mu\text{g/ml}$ )

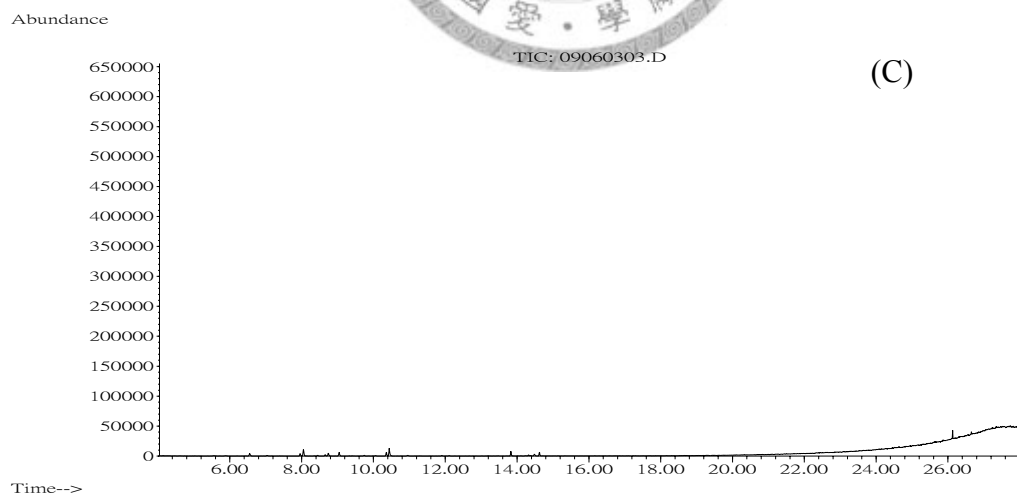
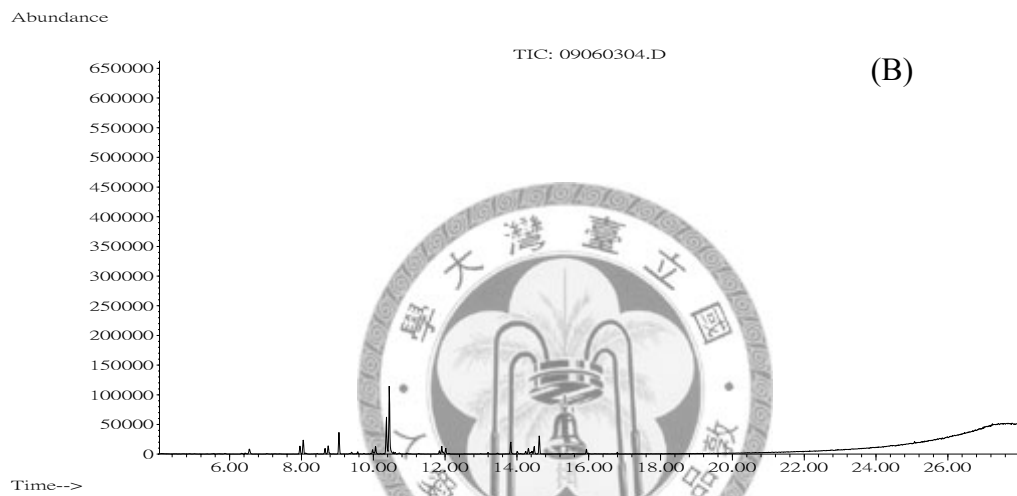
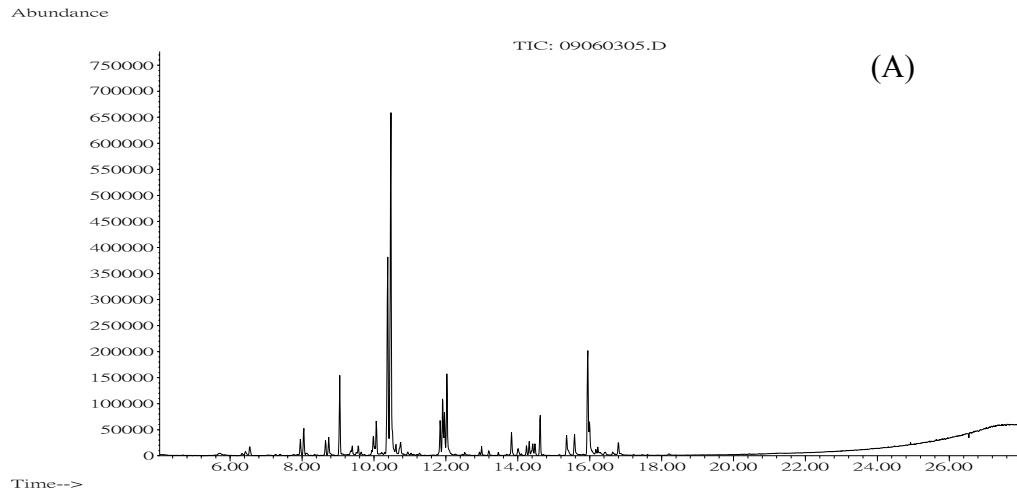


圖 9. ABE-Hex-Oil-10% EA 總離子層析圖譜。(A) 1000  $\mu\text{g/ml}$  (B) 500  $\mu\text{g/ml}$  (C)

250  $\mu\text{g/ml}$  (D) 100  $\mu\text{g/ml}$  (E) 50  $\mu\text{g/ml}$

Figure 9. Total ion chromatography of ABE-Hex-Oil-10% EA. (A) 1000  $\mu\text{g/ml}$  (B)

500  $\mu\text{g/ml}$  (C) 250  $\mu\text{g/ml}$  (D) 100  $\mu\text{g/ml}$  (E) 50  $\mu\text{g/ml}$

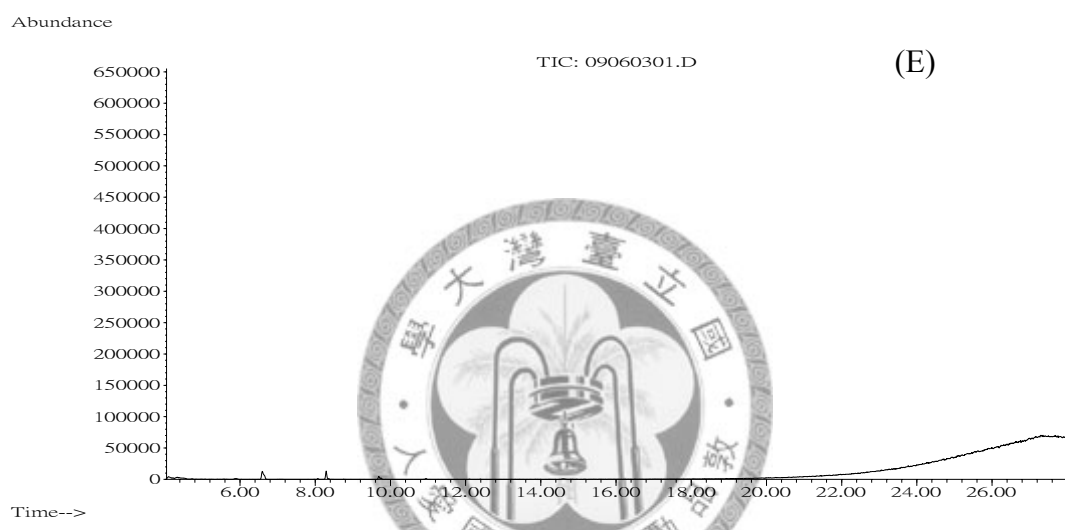
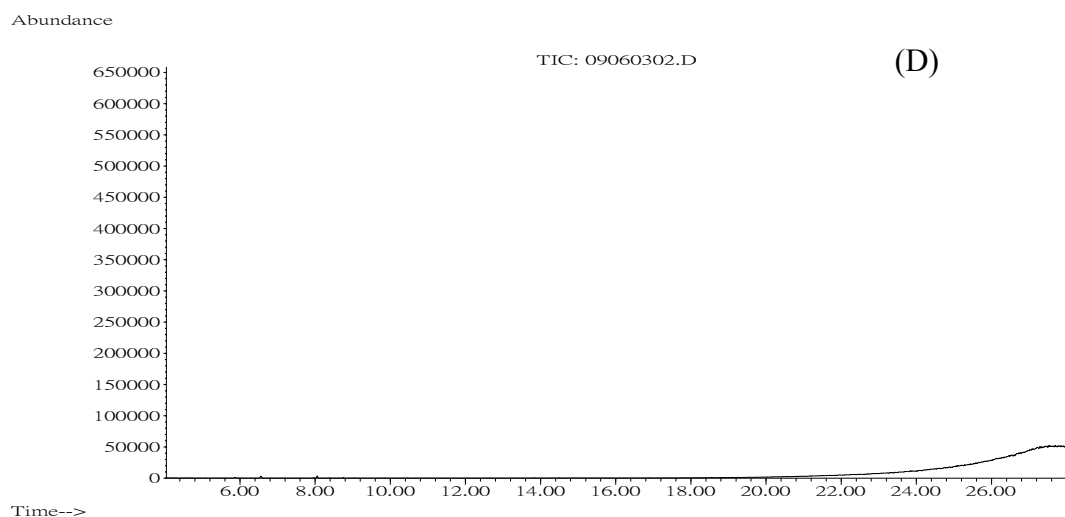


圖9. ABE-Hex-Oil-10% EA 總離子層析圖譜。(A) 1000  $\mu\text{g/ml}$  (B) 500  $\mu\text{g/ml}$  (C) 250  $\mu\text{g/ml}$  (D) 100  $\mu\text{g/ml}$  (E) 50  $\mu\text{g/ml}$

Figure 9. Total ion chromatography of ABE-Hex-Oil-10% EA. (A) 1000  $\mu\text{g/ml}$  (B) 500  $\mu\text{g/ml}$  (C) 250  $\mu\text{g/ml}$  (D) 100  $\mu\text{g/ml}$  (E) 50  $\mu\text{g/ml}$



## 2. 氣相層析質譜儀分析樣品

所挑選使用於氣相層析質譜儀分析之樣品為前節所敘述中經 Flash column 所製備 ABE-Hex 之不同極性區分層以及其非皂化物成分，總計為六個實驗樣品：ABE-Hex-Oil-10% EA、ABE-Hex-Oil-EA、ABE-Hex-Oil-MeOH、ABE-Hex-Fat-EA、ABE-Hex-Fat-MeOH、ABE-Hex-non saponifiable matters。樣品均配置濃度為 2000  $\mu\text{g/ml}$ 。樣品以 0.45  $\mu\text{m}$  過濾膜過濾後，盛裝於 GC 樣品瓶，密封後保存於 4 $^{\circ}\text{C}$  以待分析。

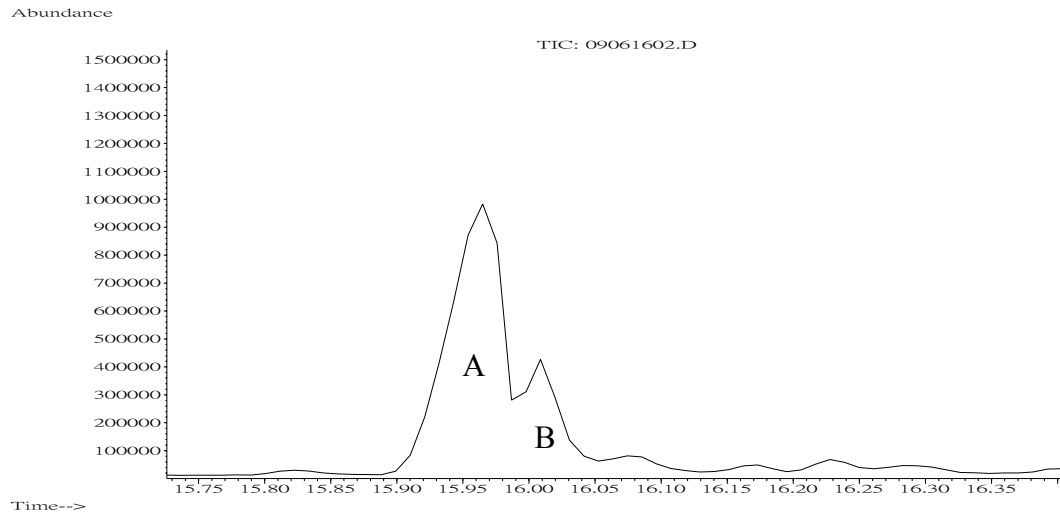
## 3. 實驗儀器設備條件

實驗儀器設備與實驗條件如預備實驗。

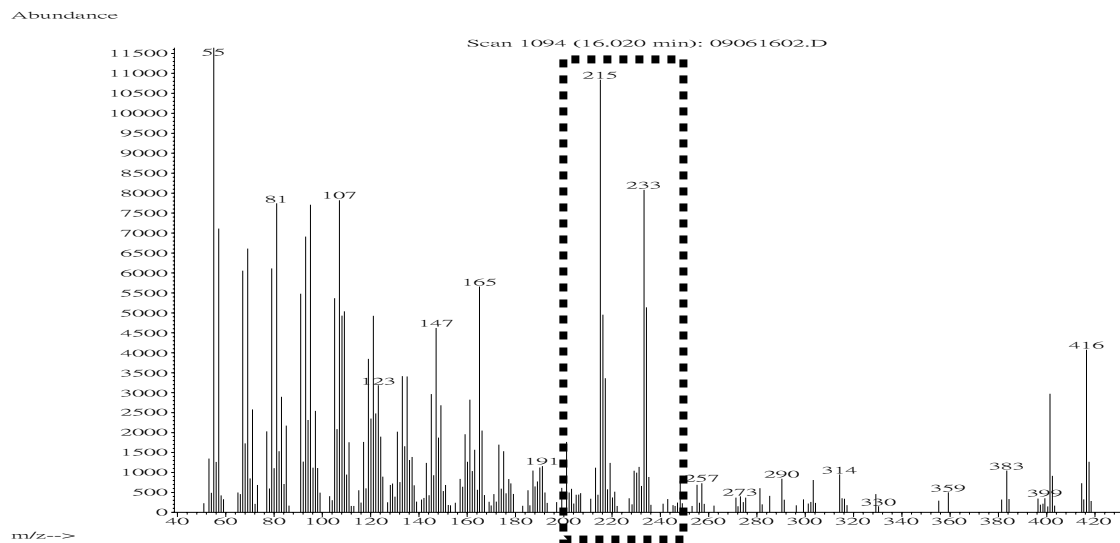
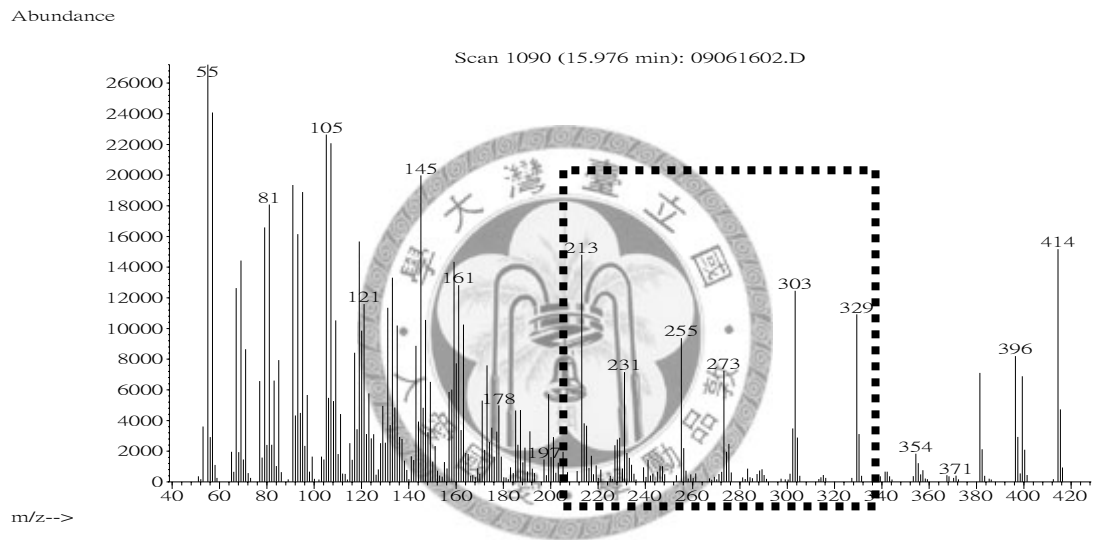
## 4. 資料分析

利用 ChemStation 1701DA 03 00 552 (Agilent, USA) 軟體分析數據資料結果，並利用 NIST05 (National Instrument of standards and technology) 及 Wiley275 標準質譜進行比對。在本次實驗中所使用的儀器設備，質譜資訊為連續式質譜掃描，因此可配合分析軟體 [extracted ion chromatography] 功能，於未分開的 peak，分析混雜的化合物為何。圖10為[extracted ion chromatography]之操作範例。

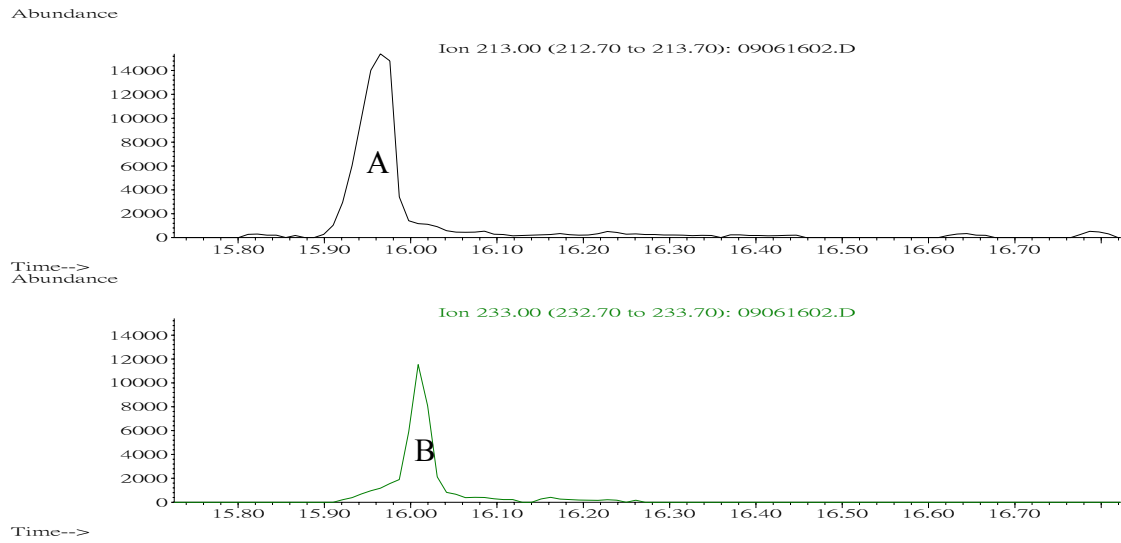




處理前，峰 A 與峰 B 夾雜無法分開。



由連續式質譜掃描可得個別時間點之質譜，因而可發現峰 A 與峰 B 之特殊分子離子峰，藉此執行[ extracted ion chromatography ]操作。



處理後，兩峰分開，藉此操作以利進一步分析。

圖 10. [ extracted ion chromatography ] 之操作範例

Figure 10. Example of [ extracted ion chromatography ] operation



#### (四) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之化學分離與純化

##### 1. 化學分離純化之策略

薏仁麩皮乙醇正己烷區分層的分離步驟，首先利用矽膠管柱進行快速管柱層析(flash column chromatography, FCC)，以極性作其次區分物，依其極性的高低，選擇合適的層析系統，進行更細之次區分的工作。層析的方法主要為開放式矽膠管柱層析 (silica gel open column chromatography)、製備型薄層層析 (preparative thin layer chromatography)、半製備型高效液相層析 (semi-preparative high-performance liquid chromatography)。在進行進一步分離純化前，以正向薄層層析 (normal phase thin layer chromatography)，配合不同種類與比例的溶劑作為展開液，尋求最佳之分離策略。之後選擇合適的層析填充劑 (主要為矽膠)，配合不同層析方法 (開放管柱層析、快速管柱層析與製備型薄層分析等) 與溶劑沖提系統等，進行細部之分離。而進一步的純化工作則藉由高效液相層析 (HPLC) 達成。不同化合物採取不同的純化策略，其個別細部之分離流程敘述於結果部分，所得純化物則利用紅外線分析儀、核磁共振儀、質譜儀等進行結構鑑定工作。

##### 2. 配合分離純化之 TLC spot 檢出工作

將層析物引流到合適的層析管柱中進行溶劑沖提後所得到的次區分物，選擇正相 silica gel 或逆相 RP-18 的 TLC 片，以不同種類與比例的溶劑作為展開液，進行 TLC spot 之檢出工作。TLC 可作為初步篩選，以便檢索各區分中所含化合物的種類與數目。使用作為 TLC 展開劑的溶劑包括正己烷、乙酸乙酯、丙酮、氯仿、二氯甲烷、甲醇、正丁醇、異丙醇、冰醋酸、水等。展開後以紫外光燈 (長波 365 nm，短波 254 nm) 觀察，並利用 10% 硫酸溶液為呈色劑，將展開完成的 TLC 片，浸漬於 10% 硫酸溶液後，取出瀝除多餘硫酸溶液後，將 TLC 片置於加熱板上以 120°C 加熱(烤片)，方可使存在有機物質的 spot 顯現出來。TLC 片確認

沖提液的成分後，再將成分相似的區分合併收集（以 Rf 值作判斷），並藉此尋求區分物後續最佳的分離策略。

### 3. 化合物的結構鑑定與分析

在對一個未知成分進行鑑定時，利用質譜儀偵測其分子量，並利用紅外線光譜儀鑑定出化合物所含的官能基，再配合一維核磁共振光譜儀光譜分析以確認結構。以下對各光譜分析作簡單的介紹。

#### (1) 核磁共振光譜儀鑑定

以 NMR ( Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer ) 光譜儀測試氫核或碳核在磁場下的吸收及其相對位置，以推測樣品的結構，使用之化學位移 ( chemical shift ) 以  $\delta$  值 ( ppm ) 表示。測試樣品以 chloroform- $d_1$ 、acetone- $d_6$  或 methanol- $d_4$  做溶劑，並分別以該等溶劑之氫或碳的化學位移作為參考標準，參考標準如下：chloroform- $d_1$  (  $\delta_H$  7.24 ppm,  $\delta_C$  77.0 ppm )、acetone- $d_6$  (  $\delta_H$  2.05 ppm,  $\delta_C$  29.8 ppm )、methanol- $d_4$  (  $\delta_H$  3.31 ppm,  $\delta_C$  49.0 ppm )。除了化學位移外，氫原子也會因其鄰近氫原子之影響而有分裂峰的訊號出現，藉此可提供更詳細化學環境情報，分裂峰符號分別以 s、d、t、m、dd、dt、及 br s 等縮寫字代表單峰 ( singlet )、雙重峰 ( doublet )、三重峰 ( triplet )、多重峰 ( multiplet )、兩組雙重峰 ( doublet doublet )、兩組三重峰 ( doublet triplet ) 及寬峰 ( broad singlet )。

#### (2) 紅外線光譜儀鑑定

將測試樣品 ( 約 1mg ) 與 KBr 研磨均勻後，加壓打成薄片，以紅外光譜儀測試樣品，由所得之結果可判斷化合物具有的官能基。

#### (3) 質譜儀鑑定

取少量樣品 (約 1mg) 以質譜儀測試樣品的分子量，就其斷裂之分子離子峰推測與確認為之化合物之結構。本次實驗所用之質譜儀類型為 electron ionization mass spectrometry (EI-MS)。



## 陸、結果

### 一、薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層氣相層析質譜儀分析

在氣相層析質譜儀分析部分主要將樣品分成三個區塊，薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層 (ABE-Hex) 經冬化後所區分成的固體脂 (ABE-Hex-Fat) 與液體油 (ABE-Hex-Oil) 部分，而此兩區分層再進一步以 Flash column 以極性作一區分，屏除三酸甘油酯之部分後，進行分析，另一方面，將薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層予以皂化反應，取其非皂化物 (ABE-Hex-non saponifiable matters, ABE-Hex-NS) 分析，樣品整理如下：

ABE-Hex-Oil: ABE-Hex-Oil-10% EA, ABE-Hex-Oil-EA, ABE-Hex-Oil-MeOH

ABE-Hex-Fat: ABE-Hex-Fat-EA, ABE-Hex-Fat-MeOH

ABE-Hex-NS

本次 GC / MS 分析之目的為廣泛的分析薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層中，非三酸甘油酯部分，可能存在有哪些成分，以比對標準質譜資料庫，來分析未知的化合物，並以 Qual value quality 為評判標準，以衡量該比對出之化合物，其可信度有多少，Qual value 之比例越高，即表示其越接近標準質譜，因此越值得信賴。在分析的結果，平均每個區分層均可比對 100 至 125 個峰，經過篩選之後，挑選出可信度較高之結果，製為圖表，詳細結果如下文所述。

各樣品氣相層析質譜儀分析結果詳敘如下：

#### (一) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後液體油區分層

圖 11 為薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後液體油各區分層經氣相層析 (ABE-Hex-Oil-10% EA、ABE-Hex-Oil-EA、ABE-Hex-Oil-MeOH) 總離子圖，以 ABE-Hex-Oil-10%EA 總離子圖譜為圖例，大致將各區段作區分，整理為圖 12 總離子圖譜與經比對可能之各區段化合物種類標示。由分析的結果可粗略將化合物分成四個區塊，脂肪酸酯與醛類、環烷類、固醇類以及無標準質譜可供比對之未知化合物群。以各區分層總離子圖譜來看，依據極性區分可得不同區分層富含

不同的化合物，ABE-Hex-Oil-10%EA、ABE-Hex-Oil-EA 可能之主要成分為環烷類與未知之化合物，而 ABE-Hex-Oil 之固醇類物質主要存在於 ABE-Hex-Oil-10%EA (總計約 15.8%)，(3 $\beta$ , 24S)-stigmast-5-en-3-ol 為其可能之主要固醇成分，在甲醇沖提物 (ABE-Hex-Oil-MeOH) 主要由各種脂肪酸酯所組成 (總計 40.0%)，(Z)-9-octadecenoic acid, methyl ester、(Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid, methyl ester 為其主要之組成。進一步將 ABE-Hex-Oil 各區分層以局部放大其總離子圖譜並標示出具有標準質譜可供比對之峰 (圖 13 ABE-Hex-Oil-10%EA，圖 14 ABE-Hex-Oil-EA，圖 15 ABE-Hex-Oil-MeOH)。此區分之分析結果部分峰之質譜並無標準質譜可供比對，且部分比對出之物質並非天然存在。

ABE-Hex-Oil-10%EA 區分層中共比對出 13 個化合物，包括：1 個單酸甘油酯 (monoglyceride) ((Z, CZ)-9,12-Octadecadienoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester)；2 個醛 (aldehyde) ((Z)-13-Octadecenal, (Z)-9,17-Octadecadienal)；2 個環烷 (cycloalkane) (Cyclododecyne, 9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane)；4 個脂肪酸酯 (fatty acid ester) (Hexadecanoic acid ethyl ester, (Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester, (Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester, Ethyl linoleate)；4 個固醇類 (steroids) (3 $\beta$ -Ergost-5-en-3-ol, (3 $\beta$ , 22E)-Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3 $\beta$ , 24S)-Stigmast-5-en-3-ol, Stigmast-4-en-3-one)。詳細資料整理為表 6。

ABE-Hex-Oil-EA 區分層中共比對出 10 個化合物，包括：1 個醯胺 (amide) ((Z)-9-Octadecenamide)；1 個單酸甘油酯 (Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester)；2 個醛 (13-Tetradecenal, (Z)-9,17-Octadecadienal)；2 個環烷 (Cyclodecyne, 9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane)；3 個脂肪酸酯 ((Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester, (Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester, Ethyl linoleate)；1 個固醇類 ((3 $\beta$ , 24S)-Stigmast-5-en-3-ol)。詳細資料整理為表 7。

ABE-Hex-Oil-MeOH 區分層中共比對出 14 個化合物，包括：1 個醯胺



((Z)-9-Octadecenamide) ; 3 個醛 (Tetradecenal, (Z)-13-Octadecenal, Octadecadnal) ; 1 個環烷 (Cyclododecyne) ; 8 個脂肪酸酯((Z)-7-Hexadecenoic acid methyl ester, Hexadecanoic acid methyl ester, (Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester, (Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester, Octadecanoic acid methyl ester, Heptadecanoic acid 16 methyl methyl ester, Eicosanoic acid methyl ester, Docosanoic acid methyl ester) ; 1 個固醇類 ((3 $\beta$ , 24S)-Stigmast-5-en-3-ol )。詳細資料整理為表 8。



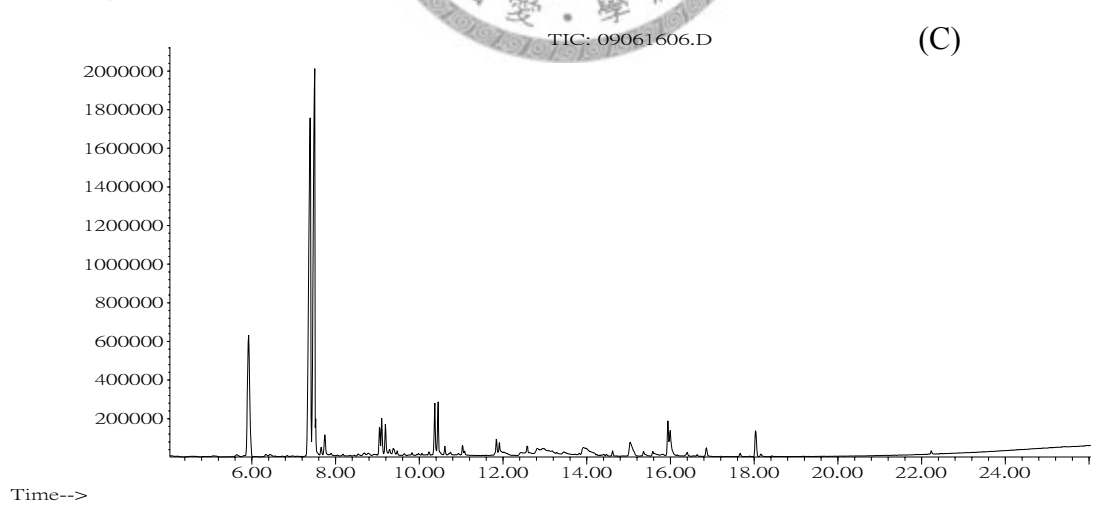
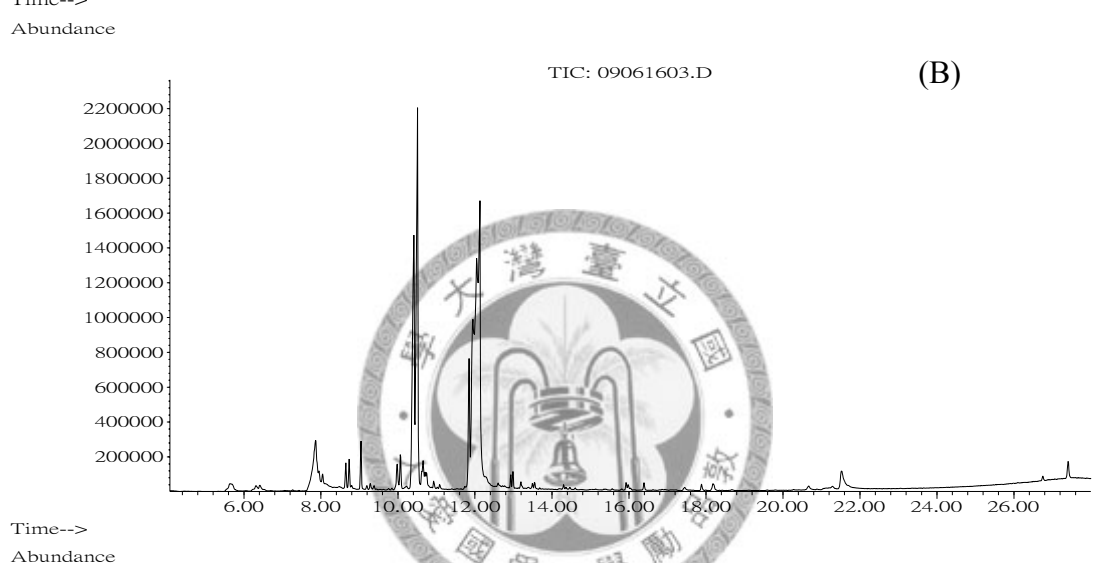
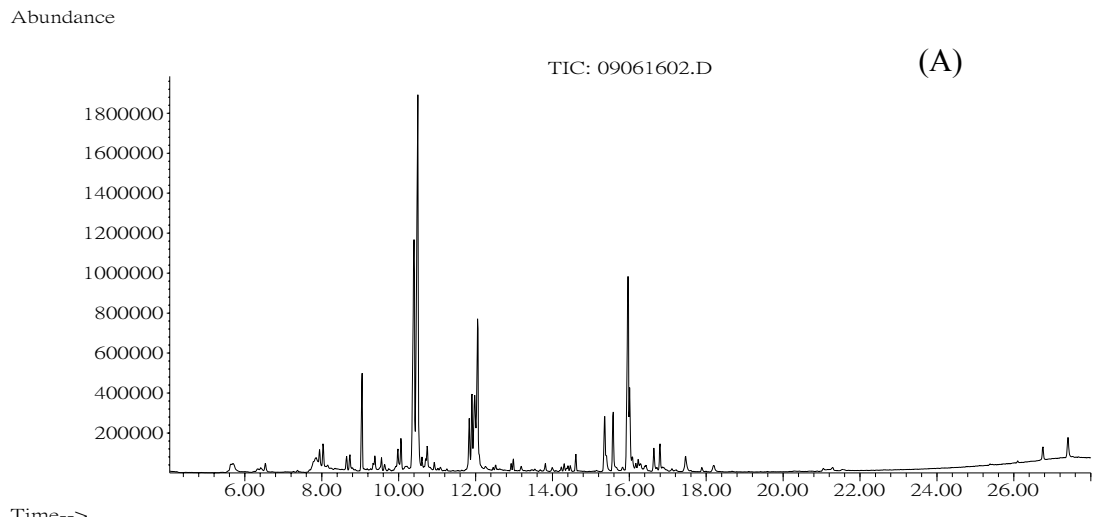


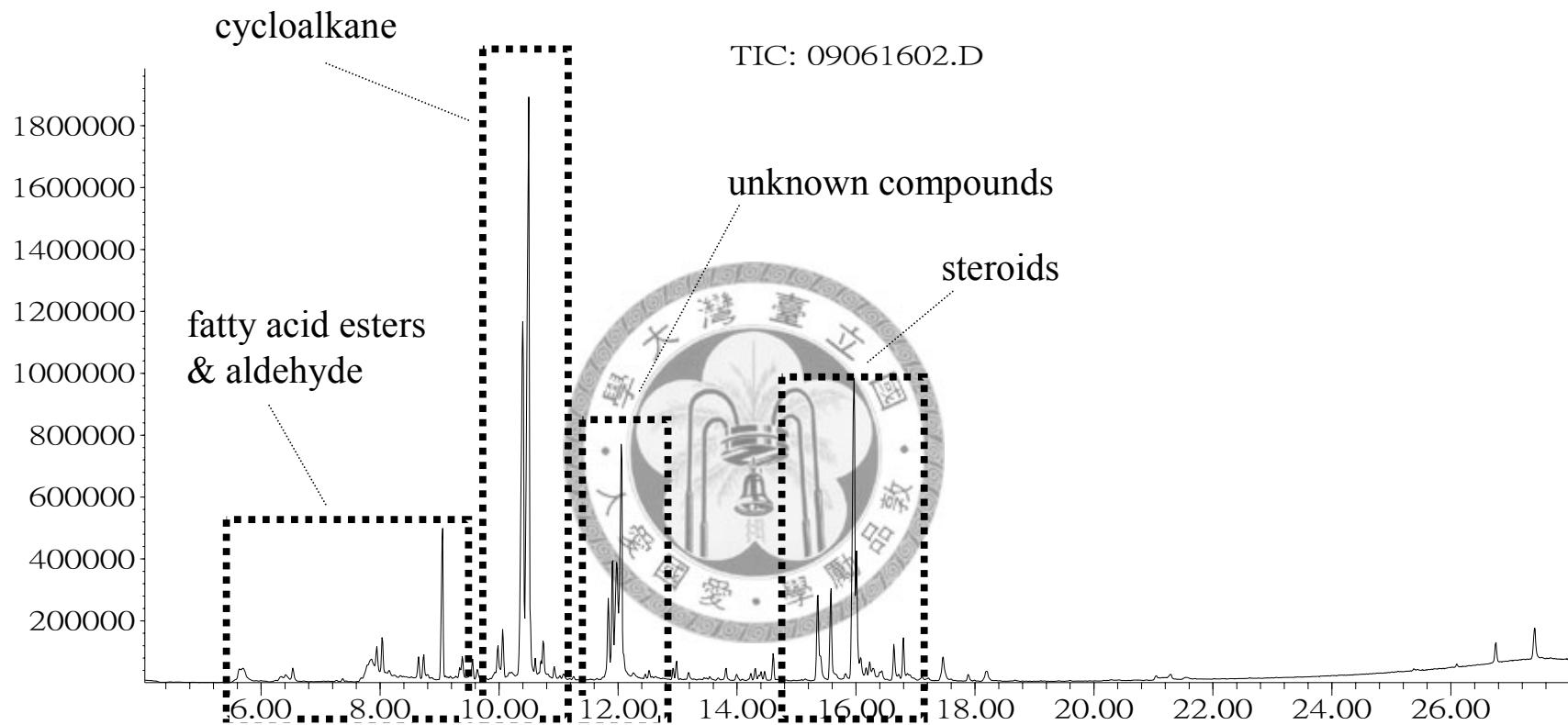
圖 11. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後液體油各區分層總離子圖譜

(A) ABE-Hex-Oil-10% EA (B) ABE-Hex-Oil-EA (C) ABE-Hex-Oil-MeOH

Figure 11. Total ion chromatography of different fractions of ABE-Hex-Oil

(A) ABE-Hex-Oil-10% EA (B) ABE-Hex-Oil-EA (C) ABE-Hex-Oil-MeOH

Abundance



Time-->

圖 12. ABE-Hex-Oil-10% EA 總離子圖譜與各區段化合物種類標示

Figure 12. Total ion chromatography of ABE-Hex-Oil-10% EA

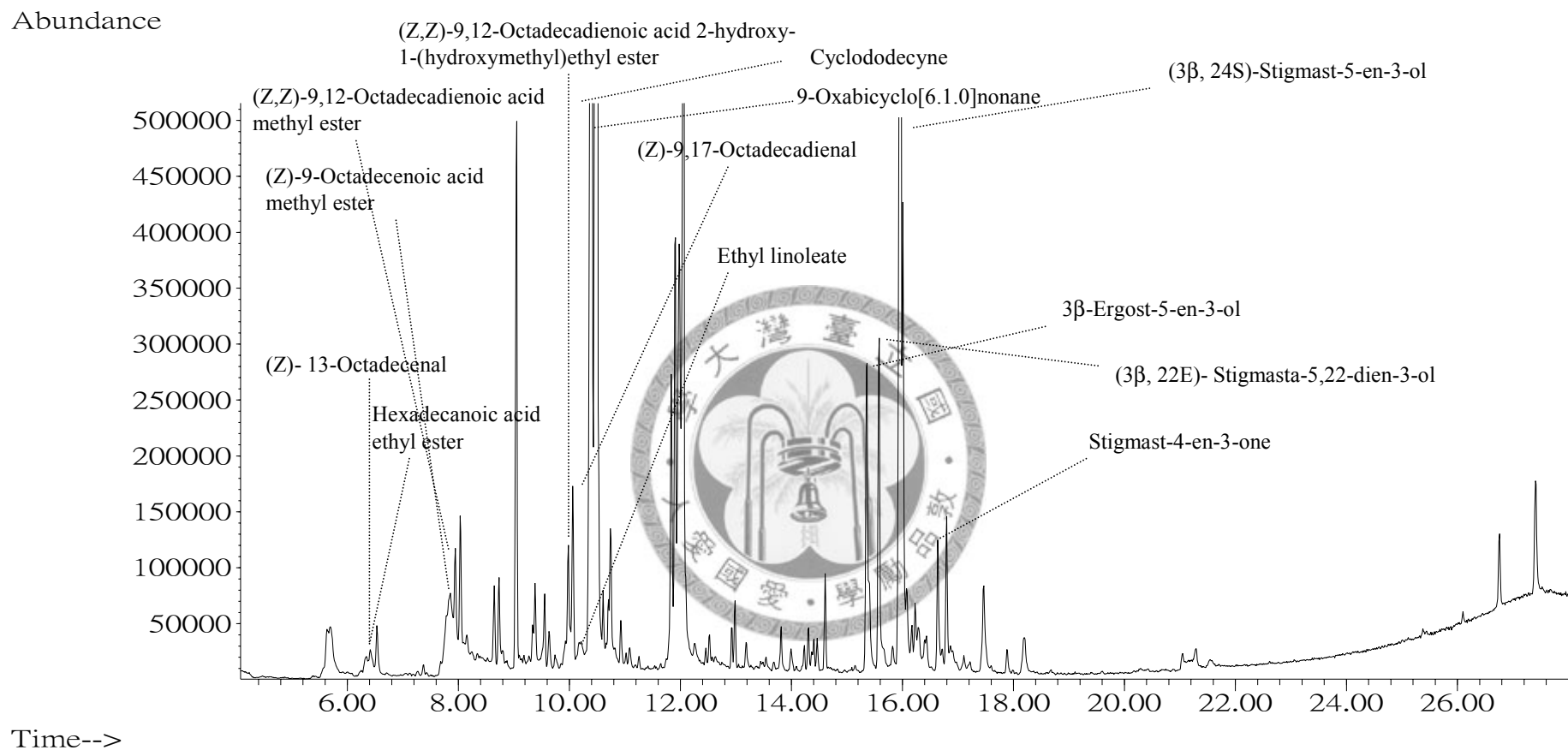


圖 13. ABE-Hex-Oil-10% EA 局部放大離子圖譜

Figure 13. Partial enlarged view of ion chromatography of ABE-Hex-Oil-10% EA

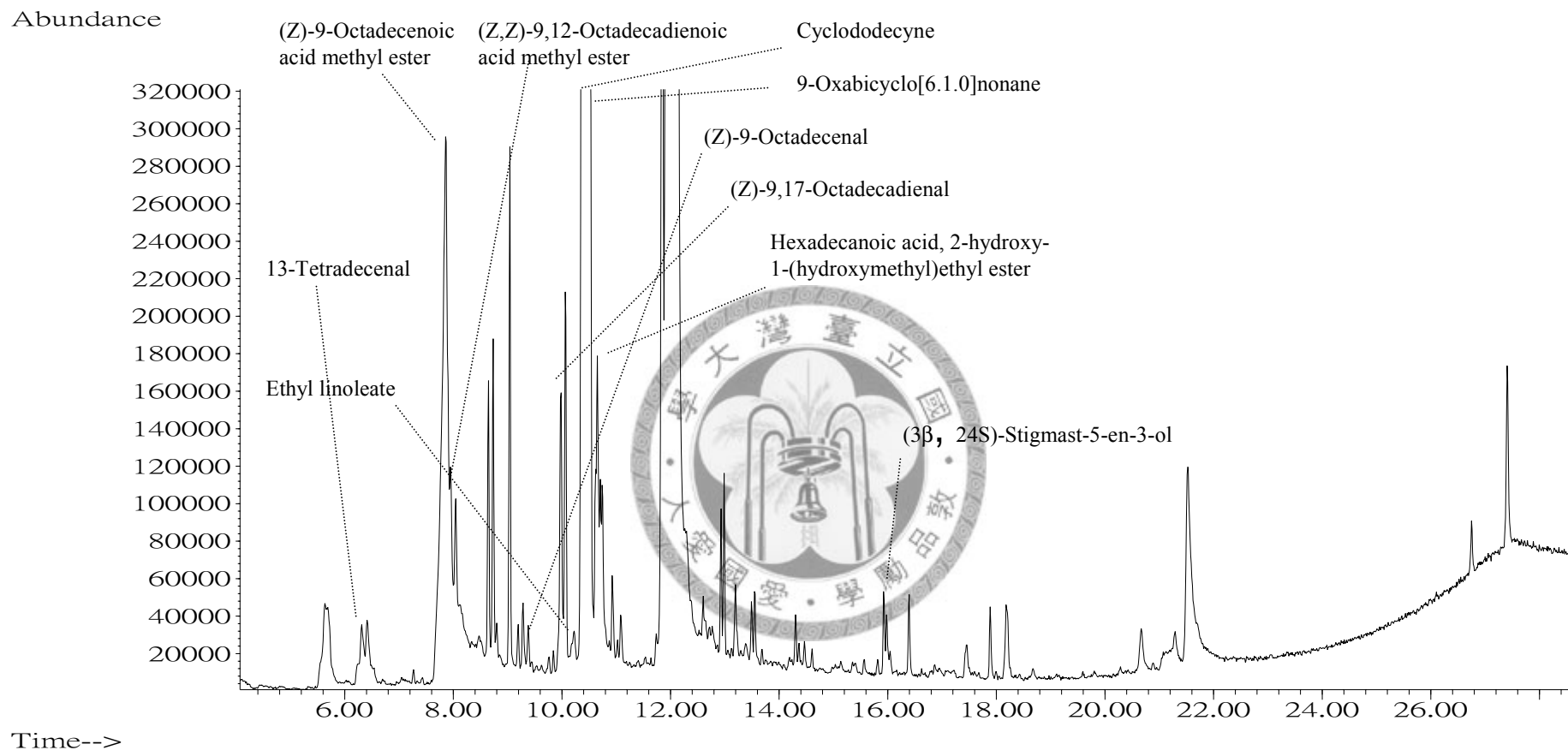


圖 14. ABE-Hex-Oil-EA 局部放大離子圖譜

Figure 14. Partial enlarged view of ion chromatography of ABE-Hex-Oil-EA

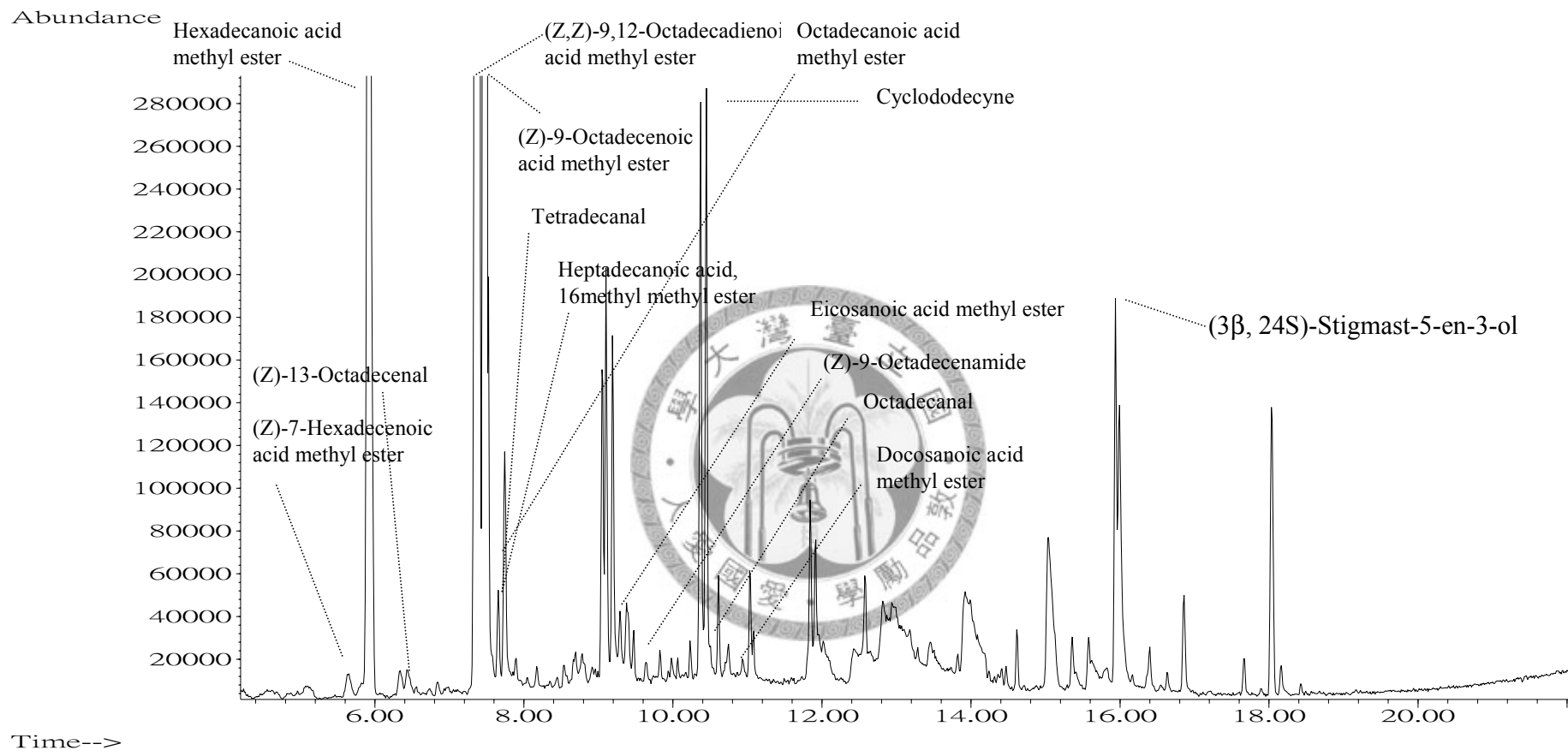


圖 15. ABE-Hex-Oil-MeOH 局部放大離子圖譜

Figure 15. Partial enlarged view of ion chromatography of ABE-Hex-Oil-MeOH

表 6. ABE-Hex-Oil- 10 % EA 區分層可能成分

Table 6. Possible composition of ABE-Hex-Oil- 10 % EA

Compounds	Mass fragments	MW	Abundance & RT ( min )	Qual value
(Z)-13-Octadecenal	<u>55</u> /69/83/98	266	0.32 & 6.422	76%
Hexadecanoic acid ethyl ester	55/ <u>88</u> /101/284	284	0.41 & 6.542	97%
(Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester	<u>55</u> /69/83/97	296	1.77 & 7.857	90%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	<u>67</u> /81/95/109	294	0.99 & 7.944	91%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	<u>67</u> /81/95/262	354	1.12 & 9.982	91%
(Z)-9,17-Octadecadienal	<u>55</u> /81/98/264	264	1.11 & 10.070	92%
Ethyl linoleate	54/ <u>67</u> /81/95	308	0.33 & 10.213	89%
Cyclododecyne	54/ <u>67</u> /81/95	164	10.14 & 10.399	86%
9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane	<u>55</u> /69/83/110	126	15.22 & 10.497	70%
3 $\beta$ -Ergost-5-en-3 $\beta$ -ol	<u>55</u> /81/105/145	400	2.58 & 15.362	98%
(3 $\beta$ , 22 <i>E</i> )-Stigmasta-5,22-dien-3-ol	<u>55</u> /213/271/300	412	2.25 & 15.581	94%
(3 $\beta$ , 24 <i>S</i> )-Stigmast-5-en-3-ol	<u>55</u> /95/213/396	414	9.90 & 15.965	95%
Stigmast-4-en-3-one	55/ <u>124</u> /229/412	412	0.81 & 16.644	99%

\*Mass fragment with underline means the main mass fragment

\*Abundance present the area % in integration

表 7. ABE-Hex-Oil-EA 區分層可能成分

Table 7. Possible composition of ABE-Hex-Oil-EA

Compounds	Mass fragments	MW	Abundance & RT ( min )	Qual value
13-Tetradecenal	<u>55</u> /69/91/116	210	0.40 & 6.423	90%
(Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester	<u>55</u> /69/83/97	296	5.03 & 7.869	98%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	<u>67</u> /81/95/109	294	0.80 & 7.946	98%
(Z)-9-Octadecenamide	<u>59</u> /72/85/97	281	0.15 & 9.381	74%
(Z)-9,17-Octadecadienal	<u>55</u> /81/98/264	264	1.09 & 10.072	95%
Ethyl linoleate	54/ <u>67</u> /81/95	308	0.10 & 10.228	80%
Cyclododecyne	54/ <u>67</u> /81/95	164	11.67 & 10.411	86%
9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane	<u>55</u> /69/83/110	126	14.99 & 10.510	70%
Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	<u>55</u> /74/ <u>98</u> /239	330	1.37 & 10.652	77%
(3 $\beta$ , 24 $S$ )-Stigmast-5-en-3-ol	<u>55</u> /95/213/396	414	0.20 & 15.934	97%

\*Mass fragment with underline means the main mass fragment  
 \*Abundance present the area % in integration.



表 8. ABE-Hex-Oil-MeOH 區分層可能成分

Table 8. Possible composition of ABE-Hex-Oil-MeOH

Compounds	Mass fragments	MW	Abundance & RT ( min )	Qual value
(Z)-7-Hexadecenoic acid methyl ester	<u>55</u> /69/81/96	268	0.20 & 5.651	76%
Hexadecanoic acid methyl ester	55/ <u>74</u> /87/143	270	7.72 & 5.925	98%
(Z)-13-Octadecenal	<u>55</u> /69/83/98	266	0.21 & 6.440	74%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	<u>67</u> /81/95/109	294	19.28 & 7.393	99%
(Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester	<u>55</u> /69/83/97	296	18.69 & 7.502	99%
Tetradecanal	<u>55</u> /68/82/96	214	0.40 & 7.656	91%
Heptadecanoic acid-16 methyl-methyl ester	55/ <u>74</u> / <u>85</u> /98	298	--- & 7.732	99%
Octadecanoic acid methyl ester	<u>55</u> / <u>74</u> /87/143	298	1.04 & 7.743	96%
Eicosanoic acid methyl ester	<u>55</u> / <u>74</u> /87/143	326	0.27 & 9.475	93%
(Z)-9-Octadecenamide	<u>59</u> / <u>72</u> /85/97	281	0.32 & 9.717	86%
Octadecanal	<u>57</u> /82/96/109	268	0.22 & 10.231	80%
Cyclododecyne	54/ <u>67</u> /81/95	164	1.85 & 10.373	76%
Docosanoic acid methyl ester	<u>55</u> / <u>74</u> /87/97	354	0.28 & 11.085	96%
(3 $\beta$ , 24S)-Stigmast-5-en-3-ol	<u>55</u> /95/213/396	414	1.25 & 15.939	95%

\*Mass fragment with underline means the main mass fragment  
 \*Abundance present the area % in integration.

## (二) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後固體脂區分層

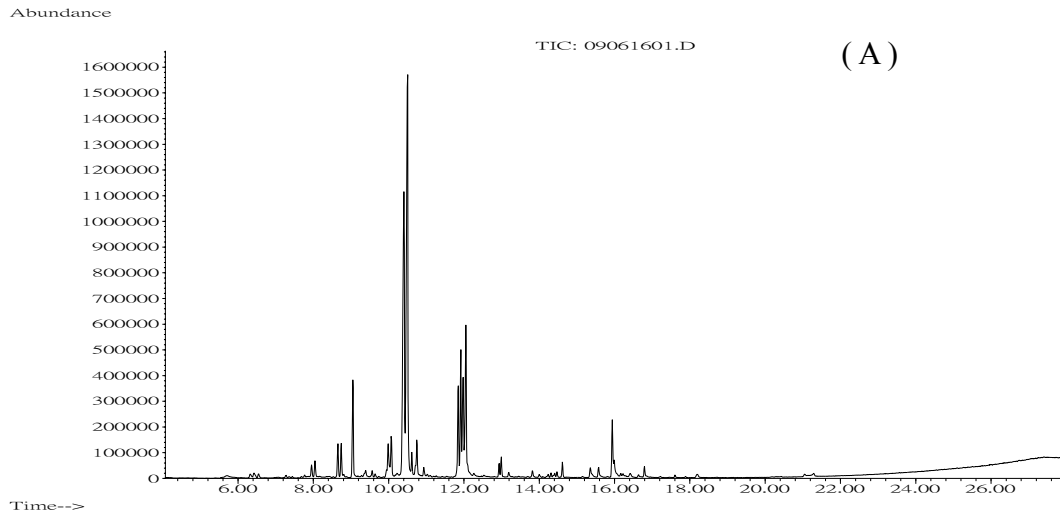
圖 16 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後固體脂 (ABE-Hex-Fat) 各區分層經氣相層析 (ABE-Hex-Fat-EA、ABE-Hex-Fat-MeOH) 總離子圖。在此區分層中，ABE-Hex-Fat-Hex 占有 89.5 %，餘下的部分僅有 10.5 %，因此不再區分為 10 % ethyl acetate / *n*-hexane 與 100% ethyl acetate 的不同區分層，而直接以 100% ethyl acetate 沖提，由分析結果，ABE-Hex-Fat-EA 其主要成分為環烷類以及無標準質譜可供比對之未知化合物，較其他區分層不同的是，ABE-Hex-Fat-EA 還有相對較多的單酸甘油酯：9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester, 9-Octadecenoic acid (Z)-2-hydroxy-(hydroxymethyl)ethyl ester 合計約有 4%，另 3 $\beta$ -Stigmast-5-en-3-ol 為其主要之固醇組成。ABE-Hex-Fat-MeOH 此區分層之分析效果不佳，於滯留時間 18 min 以後的部分無分離效果，無法做有效的分析，此區分層雖有游離脂肪酸與脂肪酸酯，但含量並不高，另外出現部分烷類物質。進一步將 ABE-Hex-Fat 各區分層以局部放大其總離子圖譜並標示出具有標準質譜可供比對之峰 (圖 17 ABE-Hex-Fat-EA，圖 18 ABE-Hex-Fat-MeOH)。此部分之結果仍有部分峰之質譜分析無標準質譜可供比對，且部分比對出之物質並非天然存在者。

ABE-Hex-Fat-EA 區分層中共比對出 10 個化合物，包括：1 個醛 (9-Octadecenal)；2 個單酸甘油酯 (9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester, 9-Octadecenoic acid (Z)-2-hydroxy-(hydroxymethyl)ethyl ester)；2 個環烷 (Cyclododecane, 9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane)；2 個脂肪酸酯 (Hexadecanoic acid methyl ester, (Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester)；3 個固醇類 (3 $\beta$ -Ergost-5-en-3-ol, Stigmasta-5,23-dien-3 $\beta$ -ol, 3 $\beta$ -Stigmast-5-en-3-ol)。詳細資料整理為表 9。

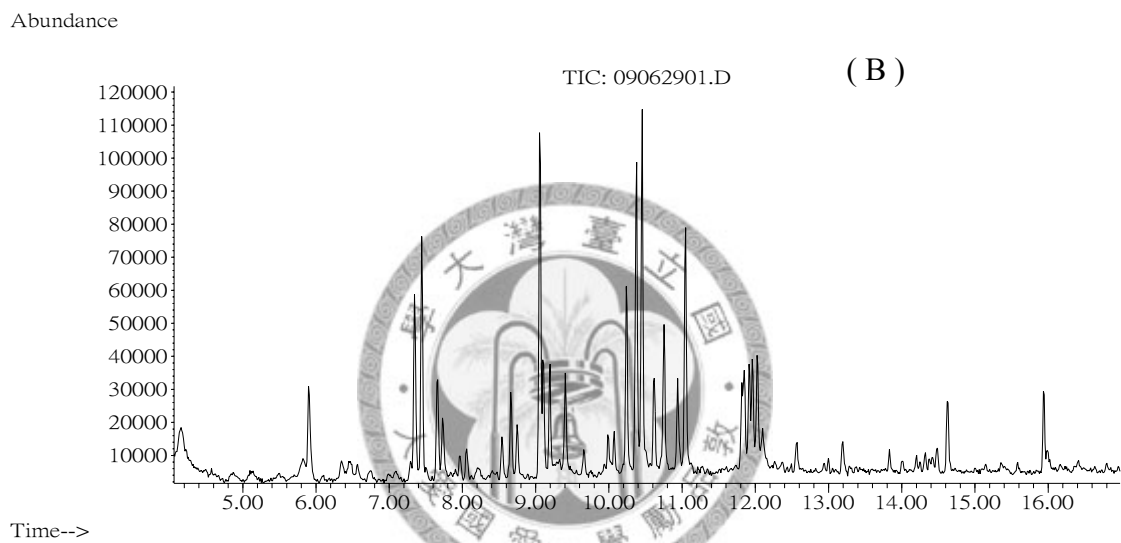
ABE-Hex-Fat-MeOH 區分層中共比對出 10 個化合物，包括：3 個醛 (Pentadecanal, Octadecanal, Hexadecanal)；1 個單酸甘油酯 (9-Octadecenoic acid (Z)-2,3-dihydroxypropyl ester)；2 個環烷 (Cyclododecane, Cycloodecane)；3 個

脂肪酸酯 (Hexadecanoic acid methyl ester, (Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester, (Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester) ; 1 個固醇類 ((3 $\beta$ , 24S)-Stigmast-5-en-3-ol) 。詳細資料整理為表 10 。





(A)



(B)

圖 16. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層冬化後固體脂各區分層總離子圖譜

(A) ABE-Hex-Fat-EA (B) ABE-Hex-Fat-MeOH

Figure 16. Total ion chromatography of different fractions of ABE-Hex-Fat

(A) ABE-Hex-Fat-EA (B) ABE-Hex-Fat-MeOH

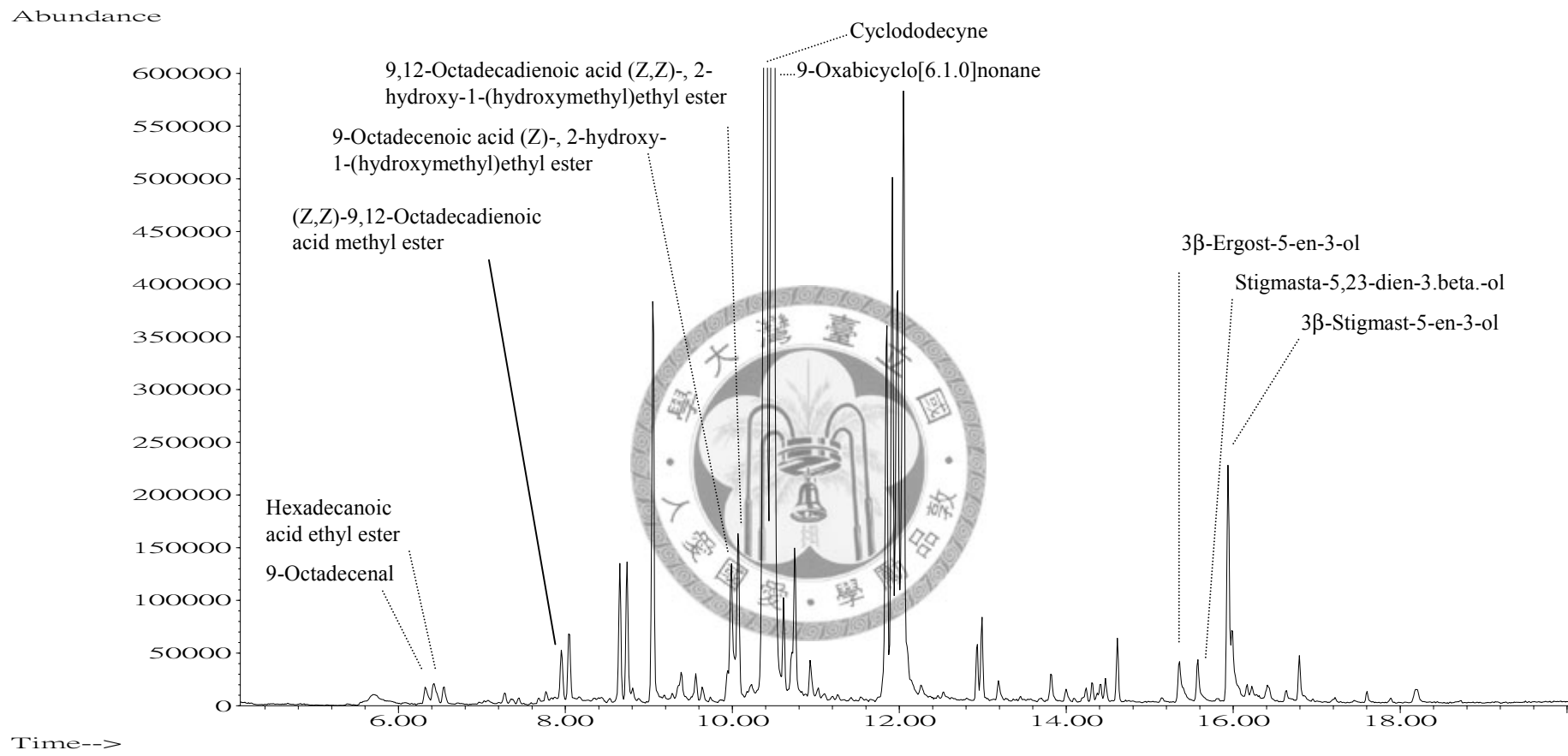
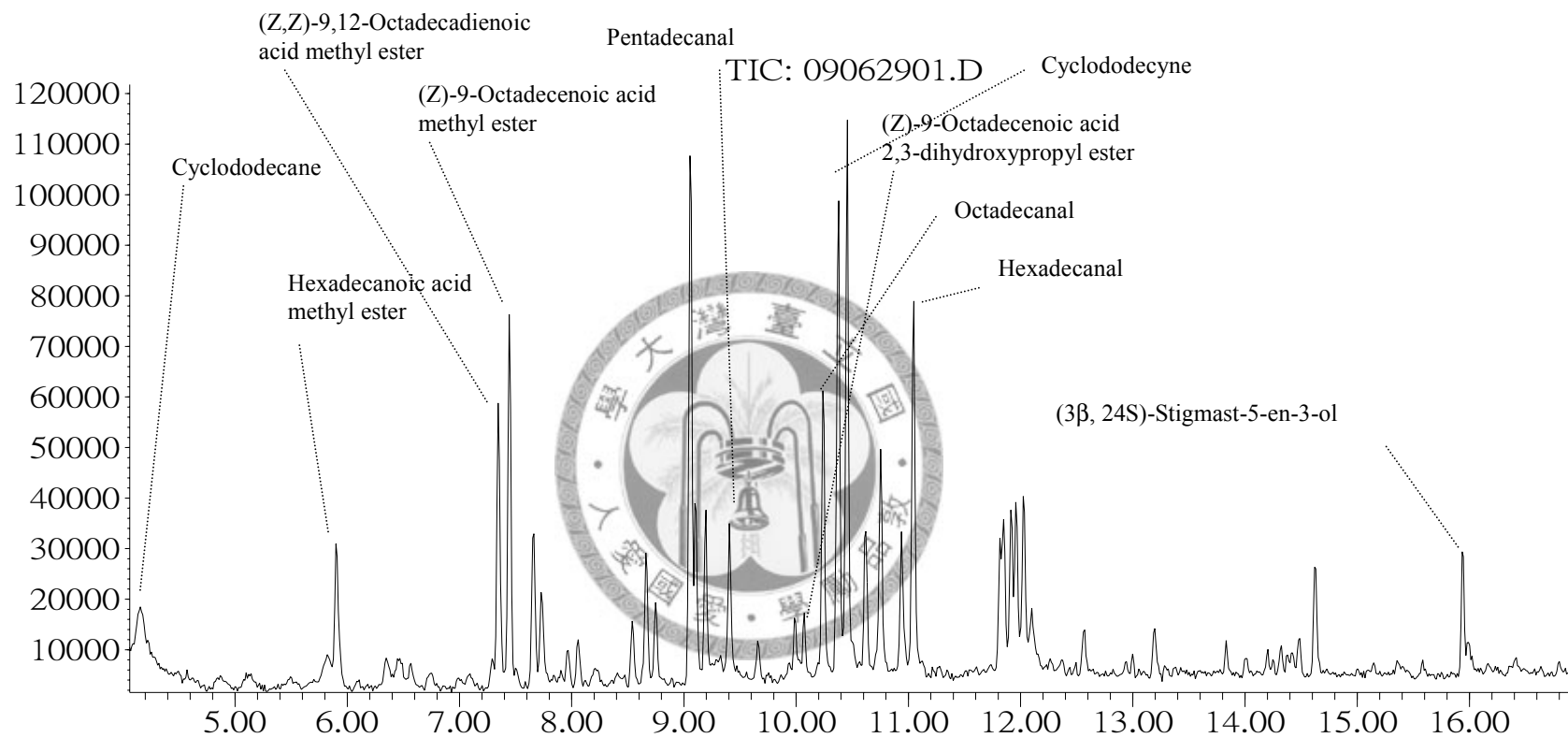


圖 17. ABE-Hex-Fat-EA 局部放大離子圖譜

Figure 17. Partial enlarged view of ion chromatography of ABE-Hex-Fat-EA

Abundance



Time-->

圖 18. ABE-Hex-Fat-MeOH 局部放大離子圖譜

Figure 18. Partial enlarged view of ion chromatography of ABE-Hex-Fat-MeOH

表 9. ABE-Hex-Fat-EA 區分層可能成分

Table 9. Possible composition of ABE-Hex-Fat-EA

Compounds	Mass fragments	MW	Abundance & RT ( min )	Qual value
9-Octadecenal	<u>55</u> /67/81/98	266	0.38 & 6.428	90%
Hexadecanoic acid ethyl ester	55/ <u>88</u> /101/284	284	0.23 & 6.549	98%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	<u>67</u> /81/95/109	294	0.65 & 7.962	91%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	<u>67</u> /81/95/262	354	2.04 & 9.989	90%
(Z)-9-Octadecenoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	<u>55</u> /69/98/264	356	2.02 & 10.081	92%
Cyclododecyne	54/ <u>67</u> /81/95	154	17.23 & 10.412	86%
9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane	<u>55</u> /69/83/110	126	22.82 & 10.502	70%
3 $\beta$ -Ergost-5-en-3-ol	<u>55</u> /81/105/145	400	0.81 & 15.347	78%
(3 $\beta$ , 24 <i>E</i> )-Stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	<u>55</u> /81/159/255	412	0.69 & 15.586	95%
(3 $\beta$ , 24 <i>S</i> )-Stigmast-5-en-3-ol	<u>55</u> /81/107/213	414	2.47 & 15.949	83%

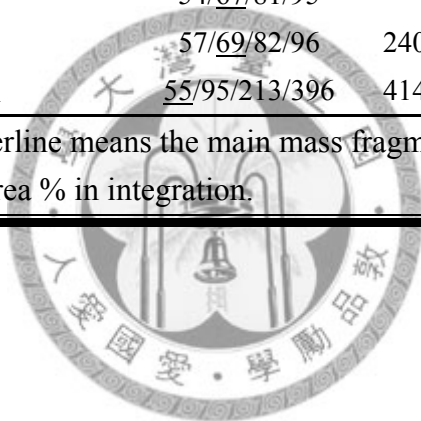
\*Mass fragment with underline means the main mass fragment  
 \*Abundance present the area % in integration.

表 10. ABE-Hex-Fat-MeOH 區分層可能成分

Table 10. Possible composition of ABE-Hex-Fat-MeOH

Compounds	Mass fragments	MW	Abundance &RT ( min )	Qual value
Cyclododecane	<u>55</u> /69/83/97	168	0.44 & 4.156	93%
Hexadecanoic acid, methyl ester	55/ <u>74</u> /87/143	270	0.63 & 5.909	96%
(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	<u>67</u> /81/95/109	294	0.94 & 7.355	98%
(Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester	<u>55</u> /69/83/97	296	1.13 & 7.454	94%
Pentadecanal	<u>55</u> /69/82/96	226	0.65 & 9.404	87%
(Z)-9-Octadecenoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester	<u>55</u> /69/98/264	356	0.26 & 10.073	83%
Octadecanal	<u>57</u> /82/96/109	268	1.02 & 10.248	91%
Cyclododecyne	54/ <u>67</u> /81/95		1.53 & 10.380	95%
Hexadecanal	57/ <u>69</u> /82/96	240	1.27 & 11.048	91%
(3 $\beta$ , 24S)-Stigmast-5-en-3-ol	<u>55</u> /95/213/396	414	0.37 & 15.946	96%

\*Mass fragment with underline means the main mass fragment  
 \*Abundance present the area % in integration.

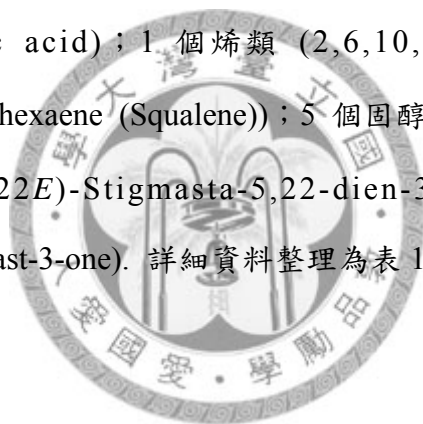




### (三) 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物

薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物 (ABE-Hex-NS)，在本次實驗的分析條件之下於滯留時間 8 min 到 15 min 之間基線呈現漂動的現象，因此使得此區間之分析效果低落，此處除了部分較顯著之峰可被解析出來外，其他均混雜無法分析，此區分層經皂化過程後，可觀察到較為微量之成分，較特殊者為 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14, 18,22-tetracosahexaene (squalene)。另外在滯留時間 16.006 min 則出現了與 epiergostanol 圖譜相似之化合物。圖 19 為薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物之總離子圖譜圖。

ABE-Hex-NS 區分層中共比對出 10 個化合物，包括：1 個醇類 (9-Octadecen-1-ol)；3 個脂肪酸 (Hexadecanoic acid, 9-Octadecenoic acid, 9,12-Octadecadienoic acid)；1 個烯類 (2,6,10,15,19,23-hexamethyl 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene (Squalene))；5 個固醇類 ( $3\beta$ -Ergost-5-en-3-ol, Epiergostanol, ( $3\beta$ , 22*E*)-Stigmasta-5,22-dien-3-ol, ( $3\beta$ , 24*S*)-Stigmast-5-en-3-ol, 5 $\alpha$ -Stigmast-3-one)。詳細資料整理為表 11。



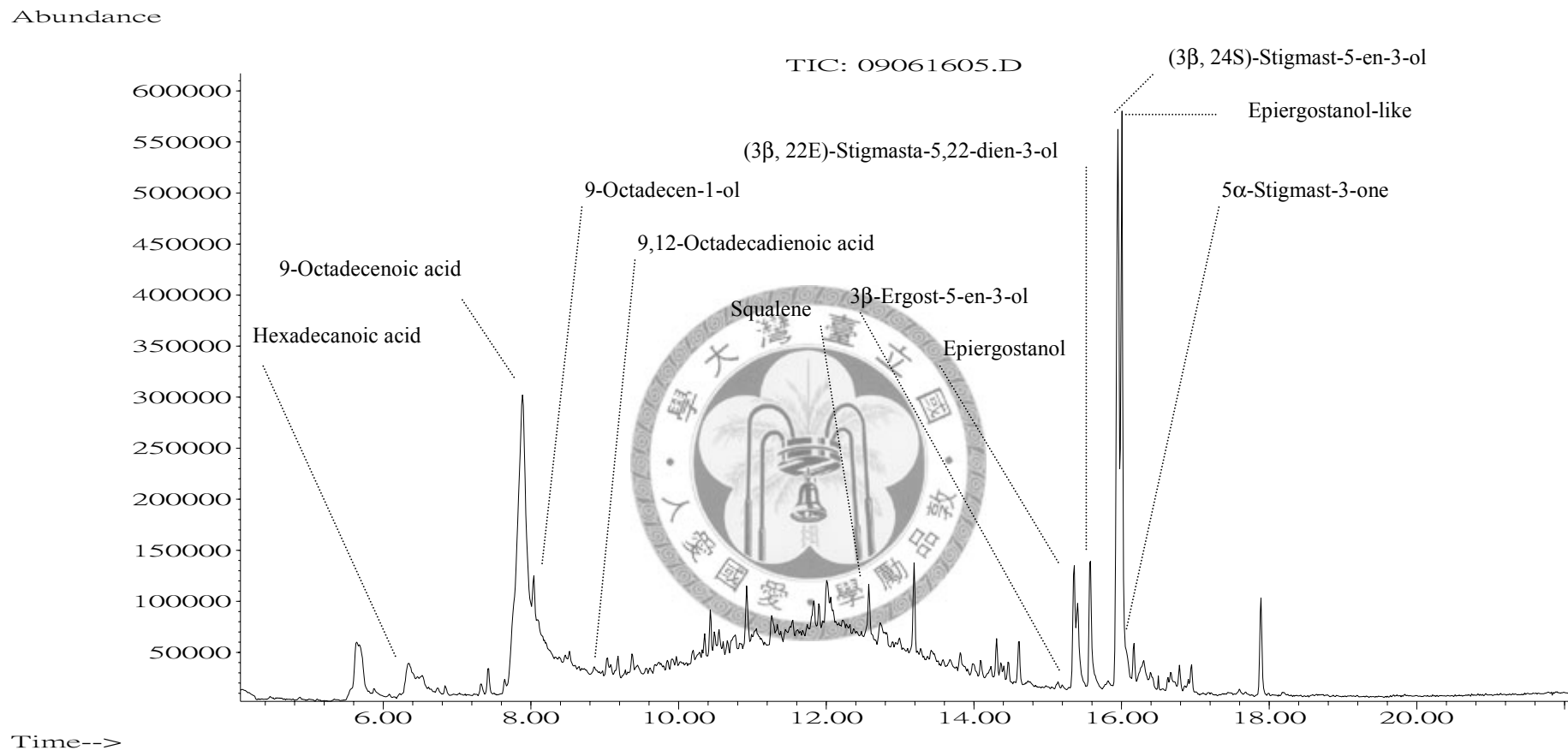


圖 19. ABE-Hex-NS 總離子圖譜

Figure 19. Total ion chromatography of ABE-Hex-NS

表 11. ABE-Hex-NS 區分層可能成分

Table 11. Possible composition of ABE-Hex-NS

Compounds	Mass fragments	MW	Abundance & RT ( min )	Qual value
Hexadecanoic acid, methyl ester	55/ <u>73</u> /83/129	256	0.99 & 6.353	96%
9-Octadecenoic acid	<u>55</u> /69/83/97	282	10.02 & 7.886	99%
9-Octadecen-1-ol	<u>55</u> /83/98/112	268	4.39 & 8.040	86%
9,12-Octadecadienoic acid	<u>55</u> /67/81/95	280	1.04 & 8.522	93%
2,6,10,15,19,23-hexamethyl- 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene (Squalene)	<u>69</u> /81/95/137	410	1.86 & 13.190	86%
3 $\beta$ -Ergost-5-en-3-ol	<u>55</u> /81/105/145	400	1.24 & 15.359	96%
Epiergostanol	<u>55</u> /81/215/233	402	1.14 & 15.403	99%
(3 $\beta$ , 22 <i>E</i> )-Stigmasta-5,22-dien-3-ol	<u>55</u> /213/271/300	412	1.61 & 15.578	97%
(3 $\beta$ , 24 <i>S</i> )-Stigmast-5-en-3-ol	<u>55</u> /95/213/396	414	5.03 & 15.951	90%
Epiergostanol-like	<u>55</u> /81/215/233	416	4.68 & 16.006	95%
5 $\alpha$ -Stigmast-3-one	<u>55</u> /217/231/414	414	--- & 16.159	99%

\*Mass fragment with underline means the main mass fragment  
 \*Abundance present the area % in integration.

## 二、ABE-Hex 之成分分離純化

ABE-Hex 經矽膠膠體以 flash column 系統做初步分離後，而甲醇沖提物 (ABE-Hex-Oil-MeOH、ABE-Hex-Fat-MeOH) 其中成分可能與薏仁麩皮乙醇萃取物乙酸乙酯區分層 (ABE-EA) 有相當大的重疊，故本實驗中分離的首要目標為 ABE-Hex 中之中極性區分層。

首先以 TLC 片作初步篩選，以便檢索各區分中所含化合物的種類數目，並藉此尋求區分物後續最佳的分離策略。進一步的層析包括快速管柱層析、高效液相層析與製備型薄層分析等方式，配合不同的膠體或管柱（主要為矽膠）來進行分離與純化的工作。純化後的區分，初步以  $^1\text{H-NMR}$  光譜分析檢測其純度。光譜分析之不純物再以上述的層析方式純化之；若為純化合物則利用紅外線光譜、核磁共振光譜、質譜等進行結構之解析。

結果顯示，ABE-Hex 中極性區分層中，在排除脂肪酸與甘油酯等油脂主要成分後，次之為固醇類物質，夾雜於油脂中之微量成分無法輕易分離純化。在此部分純化得 3 個化合物，均為植物固醇，另有大量雙酸甘油酯 (diglyceride) 混合物。茲將成分分離圖簡示於圖 20。

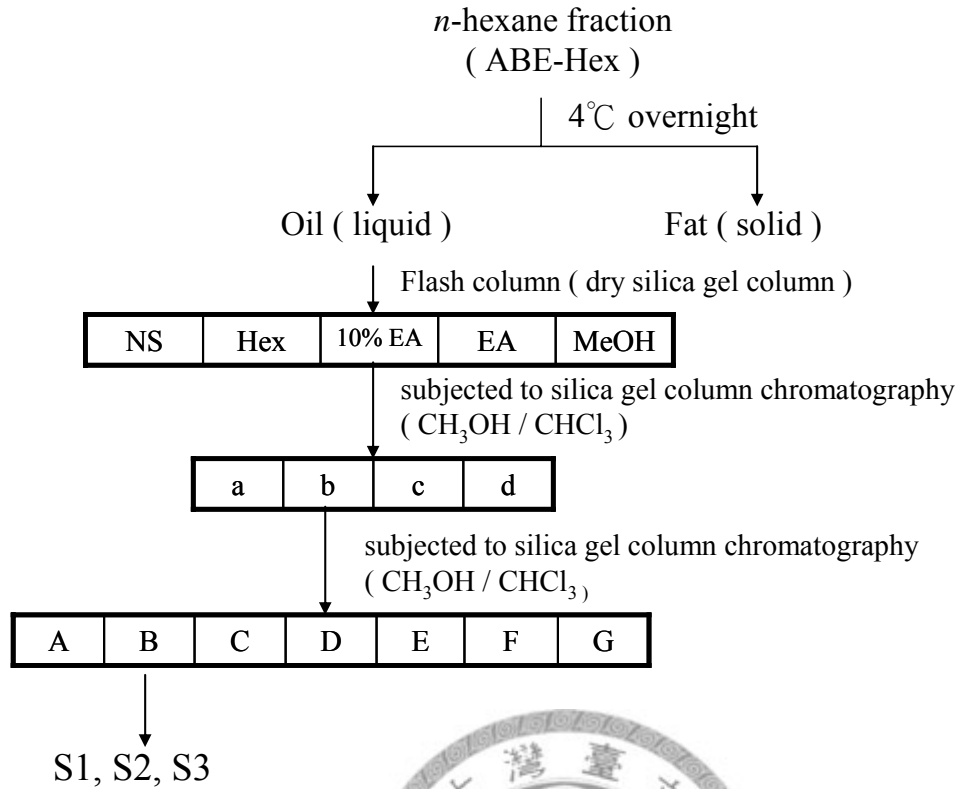


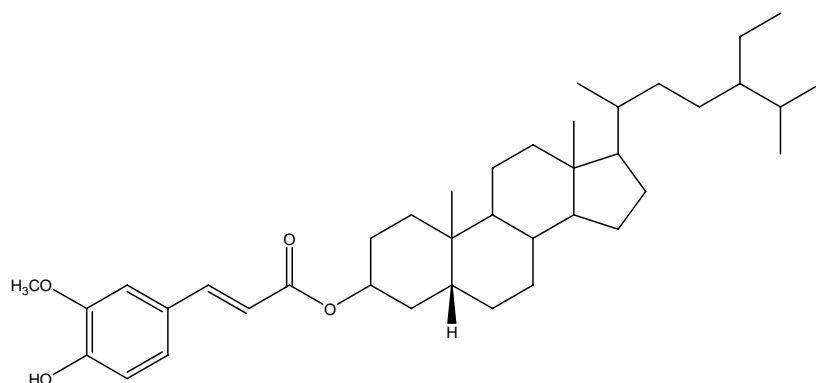
圖 20. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層 ( ABE-Hex ) 之成分分離圖

Figure 20. Analytic scheme of component isolation in ABE-Hex

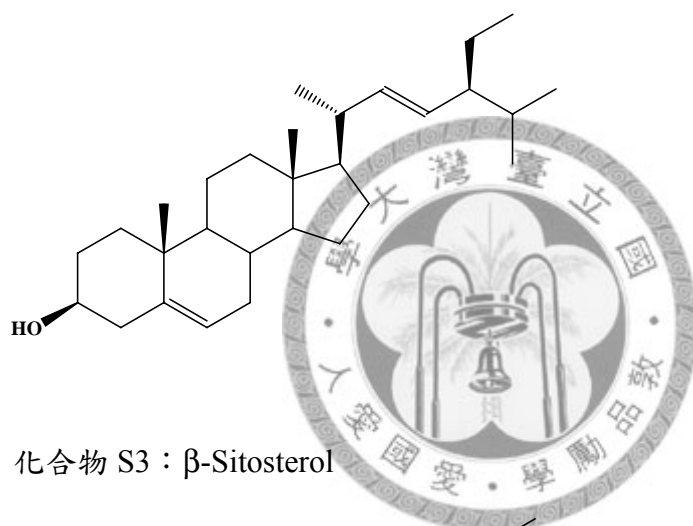


1. 純化合物結構摘要

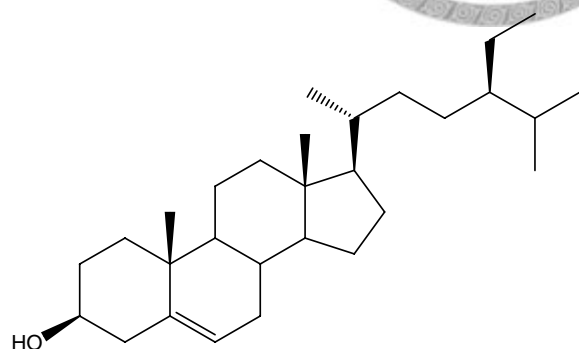
(1). 化合物 S1 : 3-*O*-Feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol



(2). 化合物 S2 : Stigmasterol

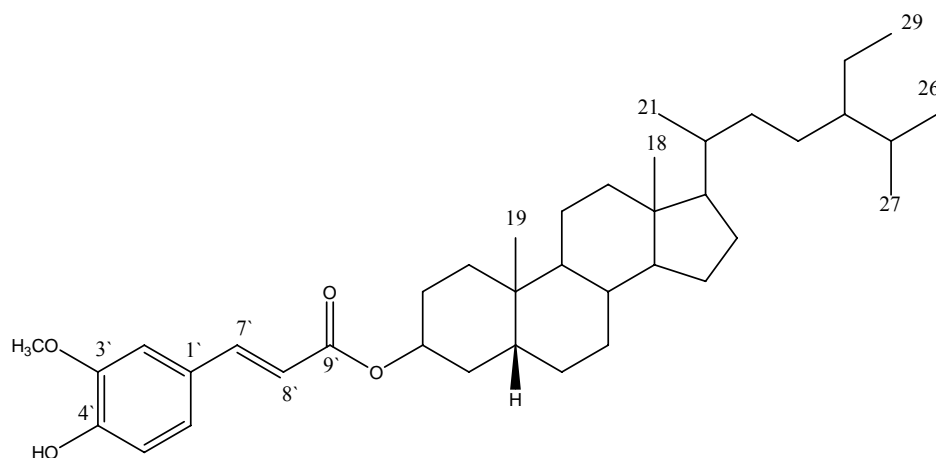


(3). 化合物 S3 :  $\beta$ -Sitosterol



## 2. 化合物之結構分析與鑑定

化合物 S1：3-*O*-Feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol



分子式：C<sub>39</sub>H<sub>60</sub>O<sub>4</sub>，分子量=592

化合物 S1 乃 ABE-Hex-Oil-10% EA-b 經下列分離純化程序而得：(1) 矽膠管柱層析以 2% methanol / chloroform 沖提系統進行分離。各區經正相 TLC 點片 (展開相 2% methanol / chloroform) 以 10% 硫酸溶液浸漬烤片後，取 TLC 片上具有紫色點者合併 (R<sub>f</sub> 值~0.5 與 0.8 部分) 得 B 區分物，再經 (2) 矽膠管柱層析以 2% EA / Dichloromethane 沖提系統進行分離。各區經正相 TLC 點片 (展開相 2% EA / Dichloromethane) 以 10% 硫酸溶液浸漬烤片後，取 TLC 片上 R<sub>f</sub> 值於 0.7~0.8 具有明顯紫色點部分進行合併，此區分物之後 (3) 以 HPLC (固定相：Luna 5  $\mu$ m silica (2) (150 x 4.6 mm)；移動相：10% *n*-hexane / chloroform；流速：2 ml / min) 進行純化工作，於滯留時間 6.5 分鐘 (solvent peak 在 4.6 min) 獲得化合物 S1。化合物 S1 為白色固體。其光譜數據如下：

<sup>1</sup>H-NMR 光譜 (圖 21-1)：CDCl<sub>3</sub>，500MHz， $\delta$ ：ppm

0.66	s, 3H	H-18
0.79	d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 3H	H-27
0.81	d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 3H	H-26
0.82	t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H	H-29
0.91	d, <i>J</i> = 6.5 Hz, 3H	H-21

1.08	s, 3H	H-19
3.89	s, 3H	-OCH <sub>3</sub>
4.79	m, 1H	H-3
5.91	s	-OH
6.25	d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H	H-8'
6.89	d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H	H-5'
7.00	dd, <i>J</i> = 7.6, 1.7 Hz, 1H	H-6'
7.01	d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H	H-2'
7.56	d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H	H-7'

**EI-MS 光譜 (圖 21-2) : *m/z* (rel. int. %)**

592(M<sup>+</sup>, 73.8), 578(22.2), 194(100), 177(33.0), 150 (20.8)

進一步與文獻 (李, 2007) 比對後, 相符一致, 分子式為 C<sub>39</sub>H<sub>60</sub>O<sub>4</sub> 之化合物 S1 為 3-*O*-Feruloyl-5β-sitostan-3-ol。





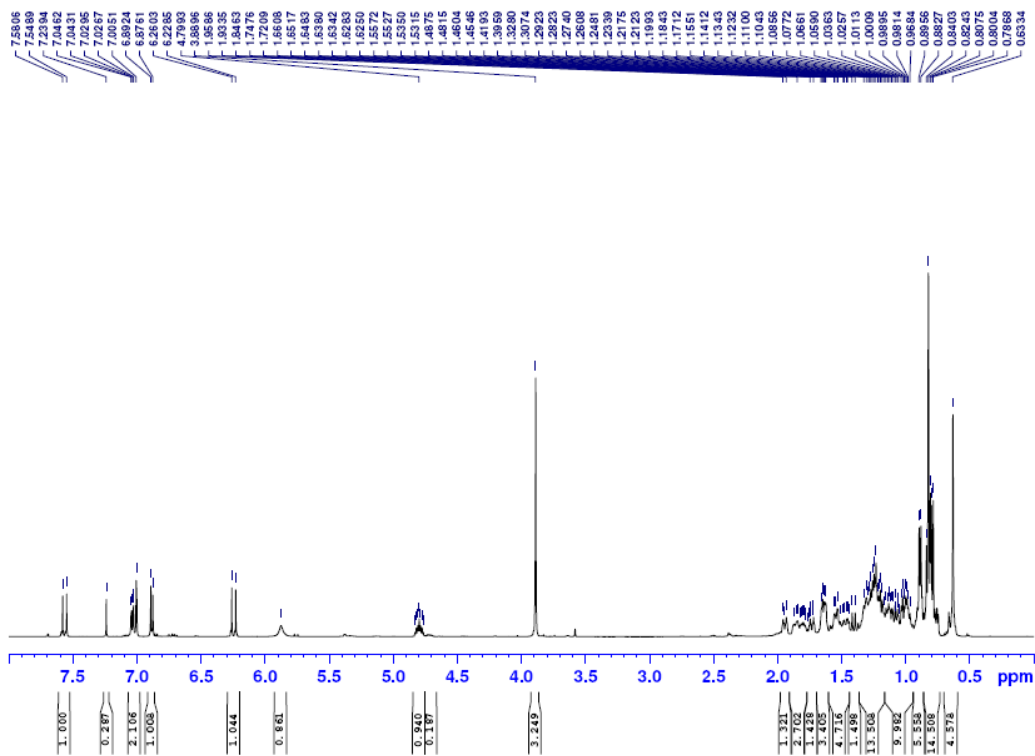


圖 21-1. 化合物 S1 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖

Figure 21-1.  $^1\text{H-NMR}$  of compound S1

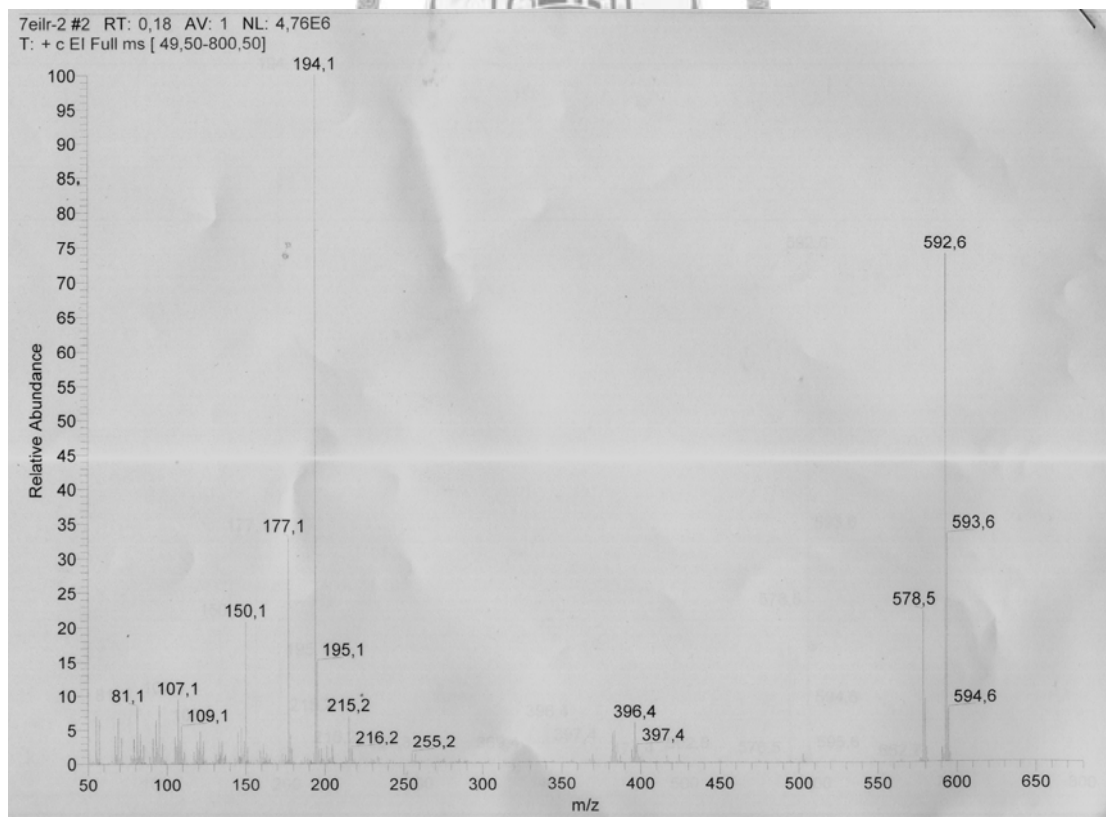
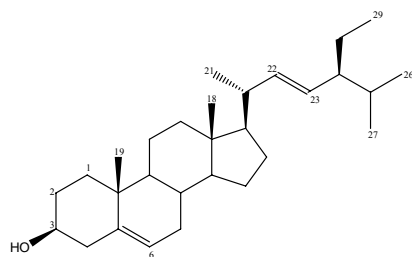


圖 21-2. 化合物 S1 之 EI-MS 光譜圖

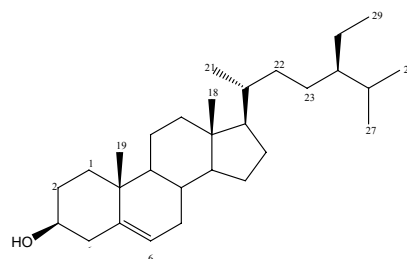
Figure 21-2. EI-MS of compound S1

化合物 S2 : Stigmasterol



分子式：C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O，MW=412

化合物 S3 :  $\beta$ -Sitosterol



分子式：C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O，MW=414

化合物 S2 與化合物 S3 乃 ABE-Hex-Oil-10% EA-b 經下列分離純化程序而得：(1)矽膠管柱層析以 2 % methanol / chloroform 沖提系統進行分離。各區經正相 TLC 點片(展開相 2 % methanol / chloroform)以 10%硫酸溶液浸漬烤片後，取 TLC 片上具有紫色點者合併 (Rf 值~0.5 與 0.8 部分)得 B 區分物，再經(2) 矽膠管柱層析以 2 % EA / dichloromethane 沖提系統進行分離。各區經正相 TLC 點片(展開相 2 % EA / dichloromethane)以 10%硫酸溶液浸漬烤片後，取 TLC 片上 Rf 值於 0.5 部分具有明顯紫色點進行合併，此區分物之後(3)以 HPLC (固定相：Luna 5  $\mu$ m silica (2) (150 x 4.6 mm)；移動相：methanol / *n*-hexane / dichloromethane (2 / 30 / 68, v/v/v)；流速：2 ml / min)進行純化工作，於滯留時間 10 分鐘 (solvent peak 在 4.6 min) 獲得化合物 S2 與化合物 S3。化合物 S2 與化合物 S3 以混晶型態存在，其為白色針狀結晶。其光譜數據如下：

<sup>1</sup>H-NMR 光譜 (圖 22-1) : CDCl<sub>3</sub> , 500MHz ,  $\delta$  : ppm

0.66	s, 3H ( S2 )	H-18
0.67	s, 3H ( S3 )	H-18
0.79	d, $J = 6.7$ Hz, 3H	H-27
0.81	d, $J = 6.7$ Hz, 3H	H-26
0.82	t, $J = 7.1$ Hz, 3H	H-29
0.90	d, $J = 6.4$ Hz, 3H	H-21
0.98	s, 3H	H-19
3.49	m, 1H	H-3
4.99	dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, 1H(S2)	H-23

5.12	dd, $J=15.2, 8.4\text{Hz}$ , 1H(S2)	H-22
5.32	t, $J= 5.3\text{ Hz}$ , 1H	H-6

**EI-MS 光譜 (圖 22-2) :  $m/z$  (rel. int. %)**

compound **S2**: 412( $M^+$ , 46.8), 397 (27.0), 255 (21.3), 95 (60.8), 83 (22.3),  
55(100) : compound **S3**:414( $M^+$ , 22.3), 396 (29), 109 ( 41.4 ), 55 (100)。

進一步與文獻 (李, 2007) 比對後, 相符一致, 分子式為  $C_{29}H_{48}O$  及  $C_{29}H_{50}O$  之化合物化合物 S1 即 S2 為植物成分中常見的麥胚固醇 (stigmasterol)、豆固醇 ( $\beta$ -sitosterol), 經文獻比對確定無誤。



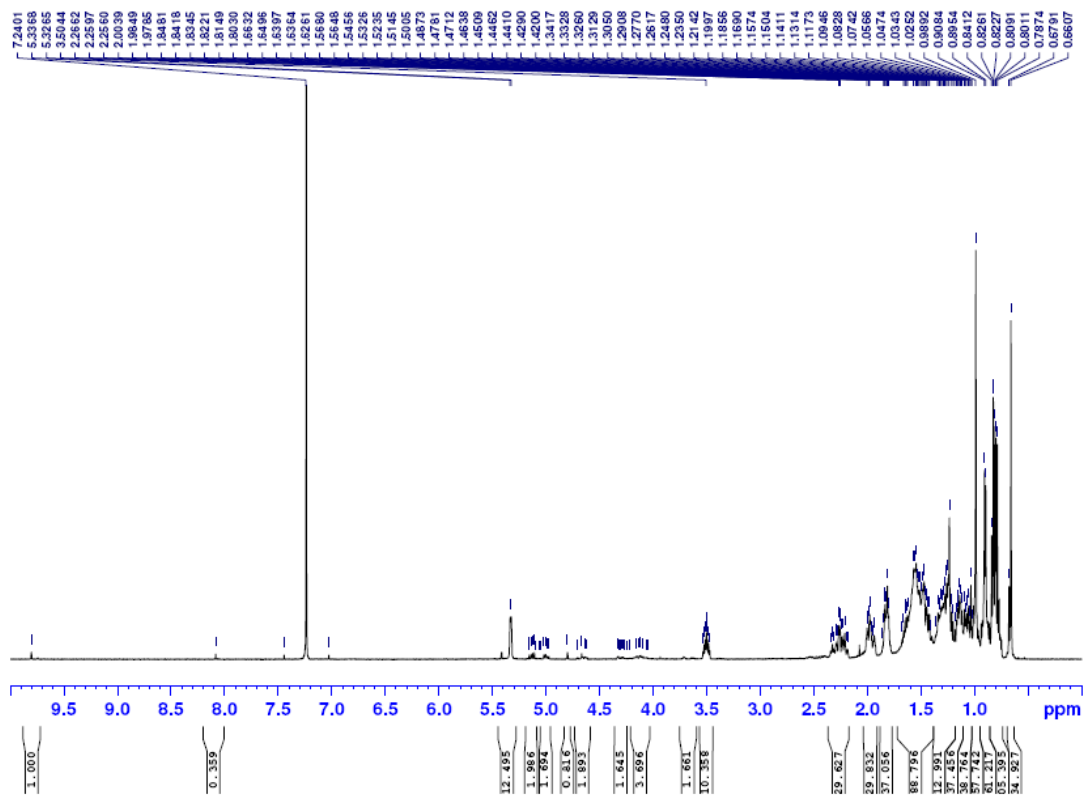


圖 22-1 化合物 S2 與化合物 S3 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖

Figure 20-1  $^1\text{H-NMR}$  of compound S2 and compound S3

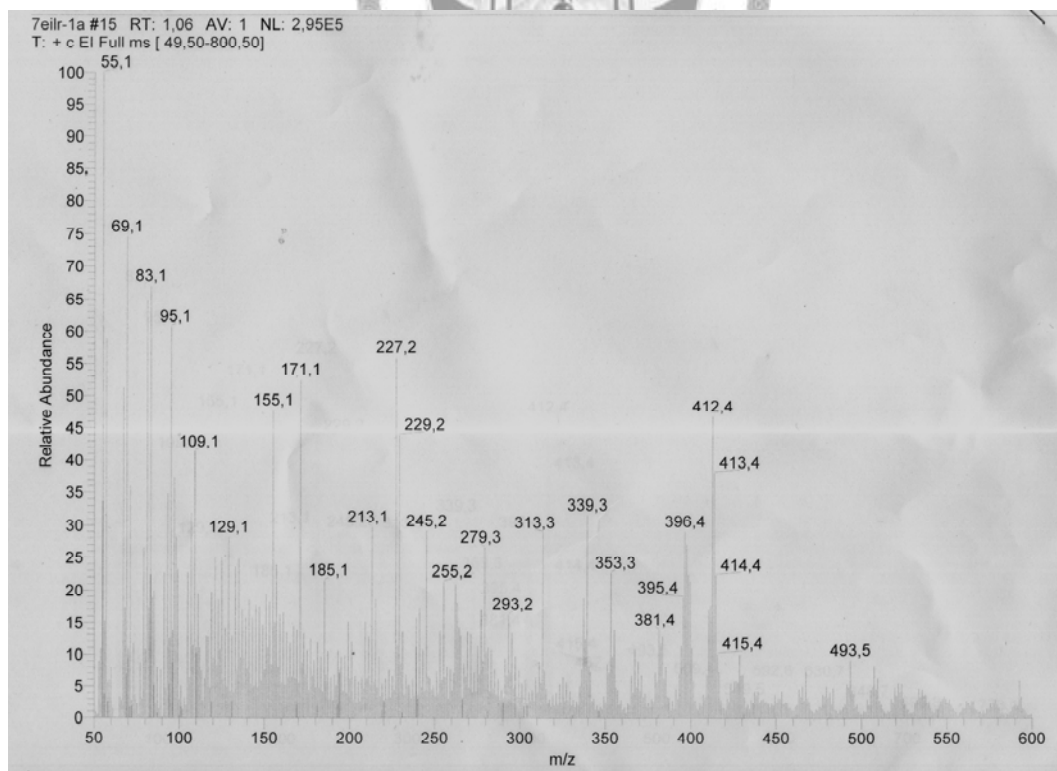
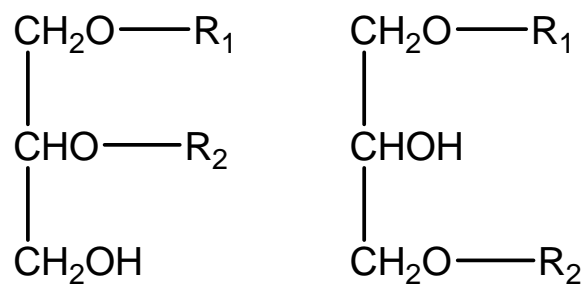


圖 22-2 化合物 S2 與化合物 S3 之 EI-MS 光譜圖

Figure 22-2 EI-MS of compound S2 and compound S3

雙酸甘油酯混合物 (Diglyceride mixture) : 1, 2-、1, 3- Diglyceride



R1, R2 =

Octadecanoic acid (18 : 0) -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CH<sub>3</sub>

Octadecenoic acid (18 : 1) -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>

Octadecadienoic acid (18 : 2) -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>

雙酸甘油酯混合物廣泛存在於 ABE-Hex-Oil-10% EA、ABE-Hex-Oil- EA 及 ABE-Hex-Fat-EA 次區分層中，一般純化方法只能分離為 1,3-雙酸甘油酯與 1,2-雙酸甘油酯，並無法更進一步的區分純化。其外觀為黃色油狀物。圖 23-1 與圖 23-2 為其 <sup>1</sup>H-NMR 光譜圖。



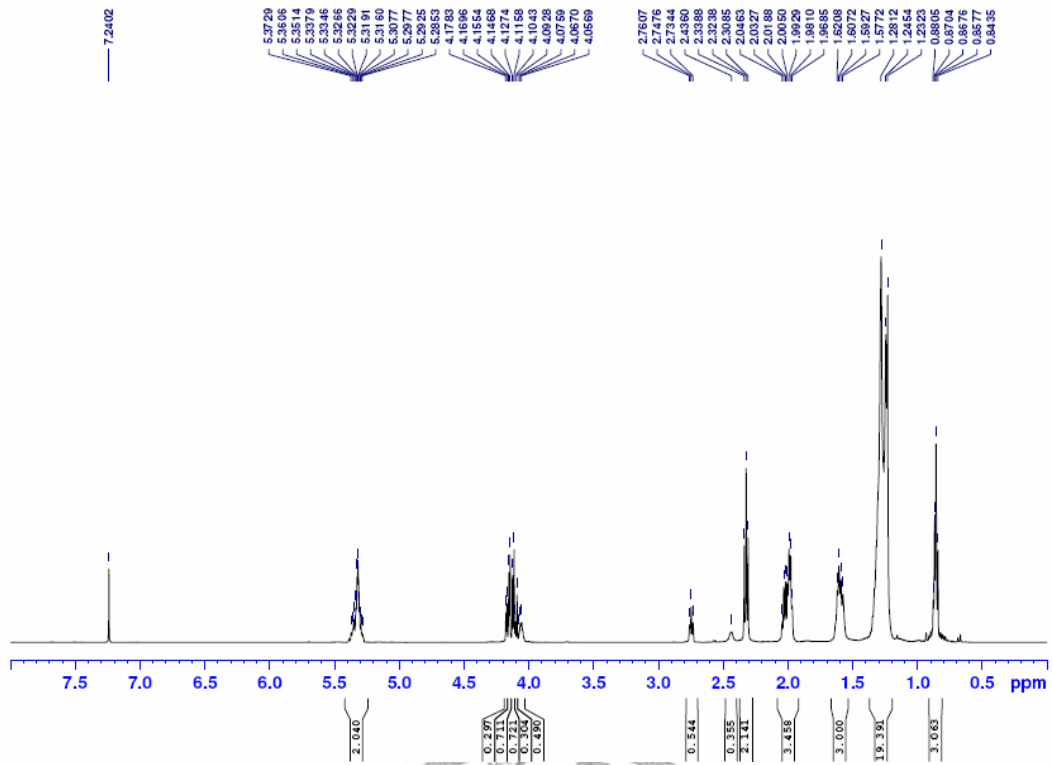


圖 23-1. 1,3-雙酸甘油酯之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖

Figure 23-1.  $^1\text{H-NMR}$  of 1, 3-diglyceride

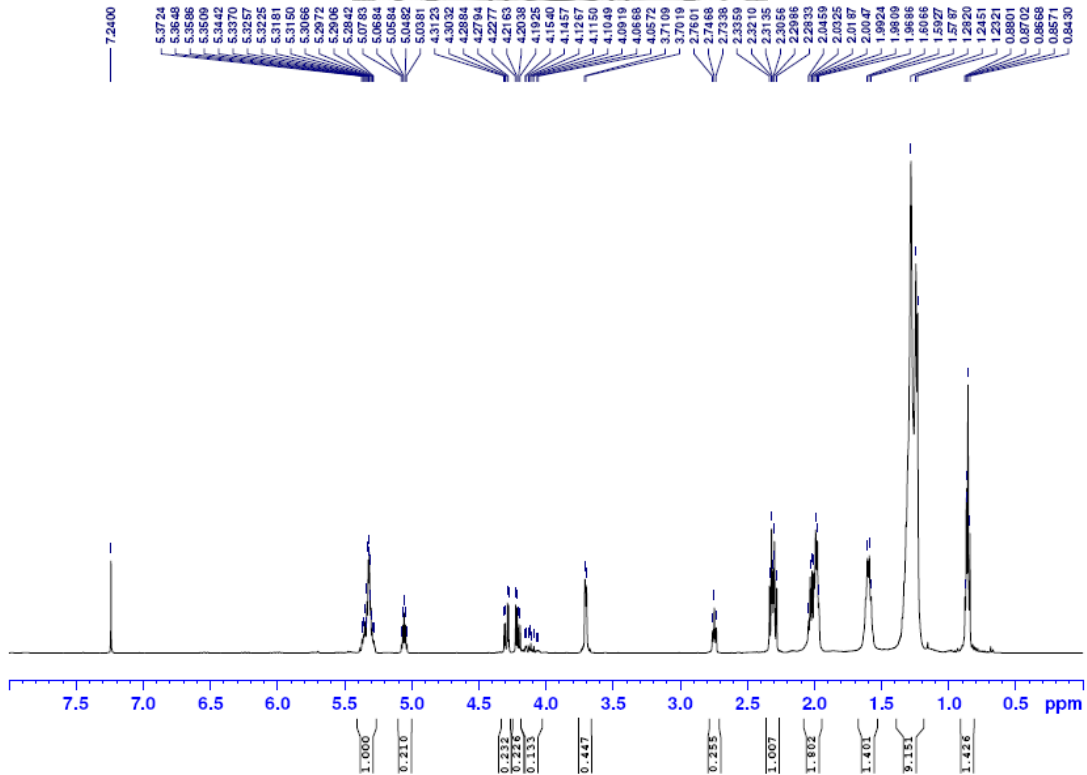


圖 23-2. 1,2-雙酸甘油酯之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖

Figure 23-2.  $^1\text{H-NMR}$  of 1, 2-diglyceride

## 柒、討論

### 一、薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層成分分析

在本次實驗中使用氣相層析質譜儀進行薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層 (ABE-Hex) 之成分分析，以了解除了三酸甘油酯之外，薏苡仁低極性區分層或稱薏苡仁油脂中存在著哪些具有活性之有機分子。ABE-Hex 經冬化處理後，分液體油 (ABE-Hex-Oil) 與 固體脂 (ABE-Hex-Fat)，再以 flash column 將 ABE-Hex 區分成不同極性層之後分析，由分析結果，在去除三酸甘油酯成分之後，分析的區分層中，環烷類物質 (cycloalkane) 與未知化合物為 ABE-Hex-Oil-10% EA、ABE-Hex-Oil-EA 與 ABE-Hex-Fat-EA 中之主要成分。環烷類物質，經比對可能為 Cyclododecyne 與 9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane (圖 24)，於三區分層分別占有：ABE-Hex-Oil- 10% EA: 25.4%、ABE-Hex-Oil-EA: 26.7%、ABE-Hex-Fat-EA: 40.1%。環烷類物質於一般生物體中並不存在，而常見於石油以及其煉製之產品中，環烷類非天然生物體代謝形成，而是經由化學反應：Diels - Alder reaction (圖 25)，由烯類化合物 (alkene) 反應生成，且由於容易產生逆反應使產物裂解，因此需要以溫度、壓力或特定催化劑使其反應方向朝向正反應。在此次分析中出現這樣的結果，一方面可能是源自於質譜判定的誤差所致(Qual value: Cyclododecyne 約 86%，9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane 僅 70%)，但因為其含量非常豐富，故此可能是由於高熱環境下導致化學反應而產生類此二物的物質因而大量被檢出。氣相層析分析前，先於注射樣品階段，以高溫將樣品予以氣化後，以攜帶氣體作為移動相將氣化之樣品分子帶入毛細管柱中進行層析分離的動作，最後再進入偵測器，因此分析之先決條件為預分析之樣品需具有在設定之溫度條件下可以氣化，方可進行分析。在本次實驗的樣品中，為確保不含無法分析的高分子量物質-三酸甘油酯，先以 flash column 將極性極低之三酸甘油酯部分去除，另外於低溫下進行冬化也可使高飽和度之油脂成分結晶形成固體脂，其主要成分亦為三酸甘油酯 (ABE-Hex-Oil-non solvent fraction + ABE-Hex-Oil-Hex fraction = 84%，ABE-Hex-Fat-Hex = 89.5%)，因此除了殘留

的三酸甘油酯，樣品中存在的高分子物質可能為植物油酯中常見的雙酸甘油酯與植物固醇酯類。此兩類化合物的高分子量使其無法輕易加熱氣化，因而產生熱裂解聚合等化學反應。

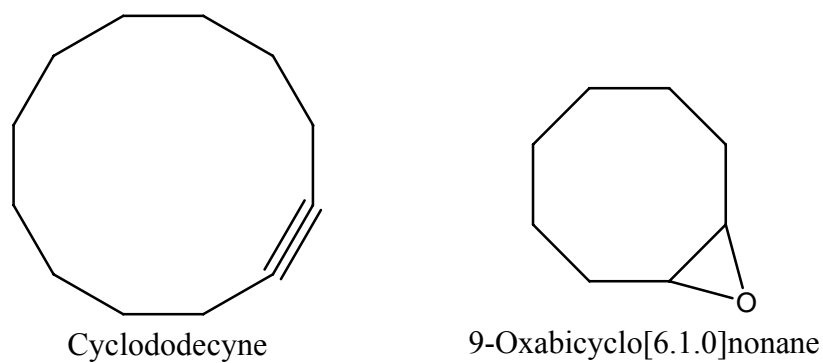


圖 24. cyclododecyne 與 9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane

Figure 24. cyclododecyne and 9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane

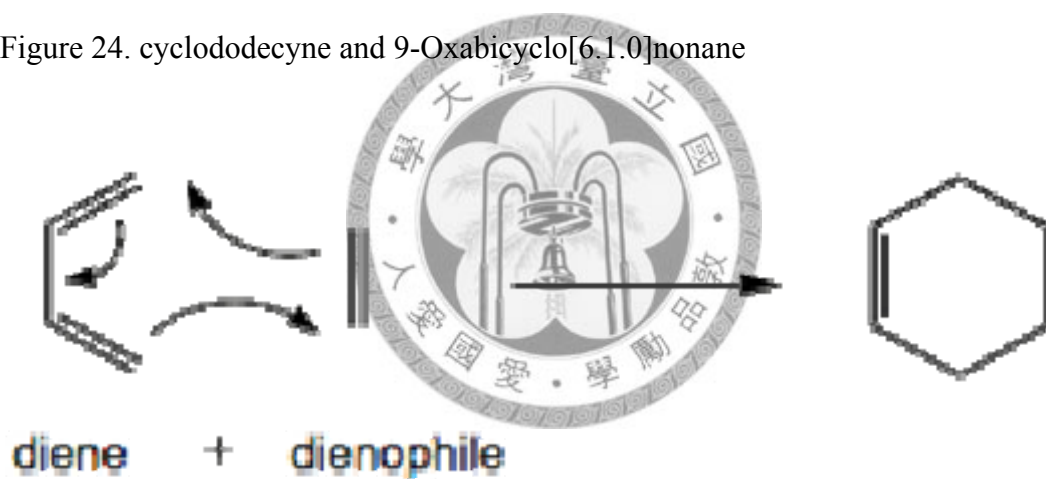


圖 25. Diels - Alder reaction

Figure 25. Diels - Alder reaction

(Diels and Alder, 1928)



薏仁油脂中的脂肪酸組成主要為 45%油酸 (C 18: 1)、25%亞麻油酸 (C 18: 2)、13% 棕櫚酸 (C 16: 0) (黃等, 1994), 因此其雙酸甘油酯分子量主要在 600 上下, 於質譜比對時所使用的標準質譜資料庫 NIST05 及 Wiley275 中, 收錄有常見以油酸、亞麻油酸以及棕櫚酸組成之雙酸甘油酯標準質譜圖譜, 但由實驗結果並無比對出雙酸甘油酯, 且於分離純化 ABE-Hex-Oil-10% EA 區分層之成分時, 確實也分離出 1, 2-及 1, 3-雙酸甘油酯, 因此可推測, 樣品於氣化揮發時, 除了無法揮發的部分外, 可能造成部分雙酸甘油酯分子的結構裂解, 斷裂出的分子含有烯類的雙鍵官能基 (油酸與亞麻油酸), 因此在高溫催化下斷片分子再進一步發生 Diels-Alder reaction, 因而產生環烷類物質的產生, 而部分雙鍵位置可能在與含氧化合物在熱催化下行環氧化作用, 進一步形成環氧化物。另一方面, 斷裂的斷片中, 部分斷裂成烷類物質, 在高溫下也可能進一步聚集成非天然存在的蠟質成分, 諸如此類物質, 在無標準質譜比對下便無從分析, 因此使得中極性區分層中, 此類物質占了大多數。

另外一高分子物質固醇酯類 (sterol / stanol ester) 也是在植物及植物油脂中常見之化合物, 為植物固醇與脂肪酸或酚酸 (phenolic acid), 如: 阿魏酸 (ferulic acid)、咖啡酸 (caffeic acid) 形成的酚酸酯 (phenolic ester) 化合物, 分子量一般為 580 上下, 於高溫下亦難以氣化, 而在高熱作用下, 可能造成酯鍵的斷裂而分別形成固醇與含酸根之化合物, 而在此狀態下便可分別氣化由攜帶氣體帶入毛細管柱中。此部分也可由氣相層析質譜分析與分離純化結果得到印證, 於分離純化可得到 3-*O*-feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol, 為一酚酸酯, 於標準質譜資料庫 NIST05 及 Wiley275 中亦有收錄其標準質譜, 但氣相層析質譜分析結果並不見該化合物, 但可單獨看到  $\beta$ -sitostanol 的氧化產物  $\beta$ -sitostenol (各區分層滯留時間 15.9 min 左右, (3 $\beta$ , 24*S*)-Stigmast-5-en-3-ol 即為  $\beta$ -sitostenol)。

極性區分可明顯的將油脂的成分作簡單的分割, 薏仁油脂中的單酸甘油酯分布於中極性區分層部分, ABE-Hex-Oil-10%EA、ABE-Hex-Oil- EA及ABE-Hex-Fat-EA均有出現, 滯留時間約在10 min 左右, 個別占有其區分層中的2.1%、

1.1%、1.4%，而組成亦與薏仁脂肪酸成分相呼應，為 palmitoylglycerol、oleoylglycerol 和 linoloylglycerol。

在植物固醇部分，廣泛出現於各區分層中，但其中以 ABE-Hex-Oil-10% EA 此區分層中含量最豐，占了該區分層 15.84% 的比重，其次則為 ABE-Hex-Fat- EA 僅有 4.0%； $\beta$ -sitostanol 及 stigmasterol ((3 $\beta$ , 22*E*)-Stigmasta-5,22-dien-3-ol) 為主要之固醇種類，兩化合物亦於分離純化中於 ABE-Hex-Oil-10% EA 區分層分離得到，為白色結晶狀固體 (化合物 S2 與 S3)，兩化合物於結構上僅差別 22 與 23 號碳之間的一個雙鍵，因此於一般分離純化並無法進一步將兩者分離，但於氣相層析中，高解析度的儀器分析效果可以將兩者分離，且  $\beta$ -sitostenol 約為 stigmasterol 的 4.4 倍。另也可看到其氧化產物 stigmast-4-en-3-one 與 stigmasta-5, 23-dien-3 $\beta$ -ol 的出現，其氧化的位置為環上的位置與第三號碳上羥基氧化，Hovenkamp 等 (2008) 指出環上的羥基氧化、環氧化或 triol-derivatives 為自氧化作用產生，外在儲藏的條件可能為其影響因子，另一方面在支鏈上 (19 號碳所接之支鏈) 的氧化作用則需要特定的氧化酵素作用並受到支鏈幾何位置的影響。ergosterol (3 $\beta$ -Ergost-5-en-3-ol) 為另一含量較多的固醇成分，其餘還有 Ergost-7-en-3-ol 和 5 $\alpha$ -Stigmast-3-one。將上述植物固醇結構整理於圖 26。

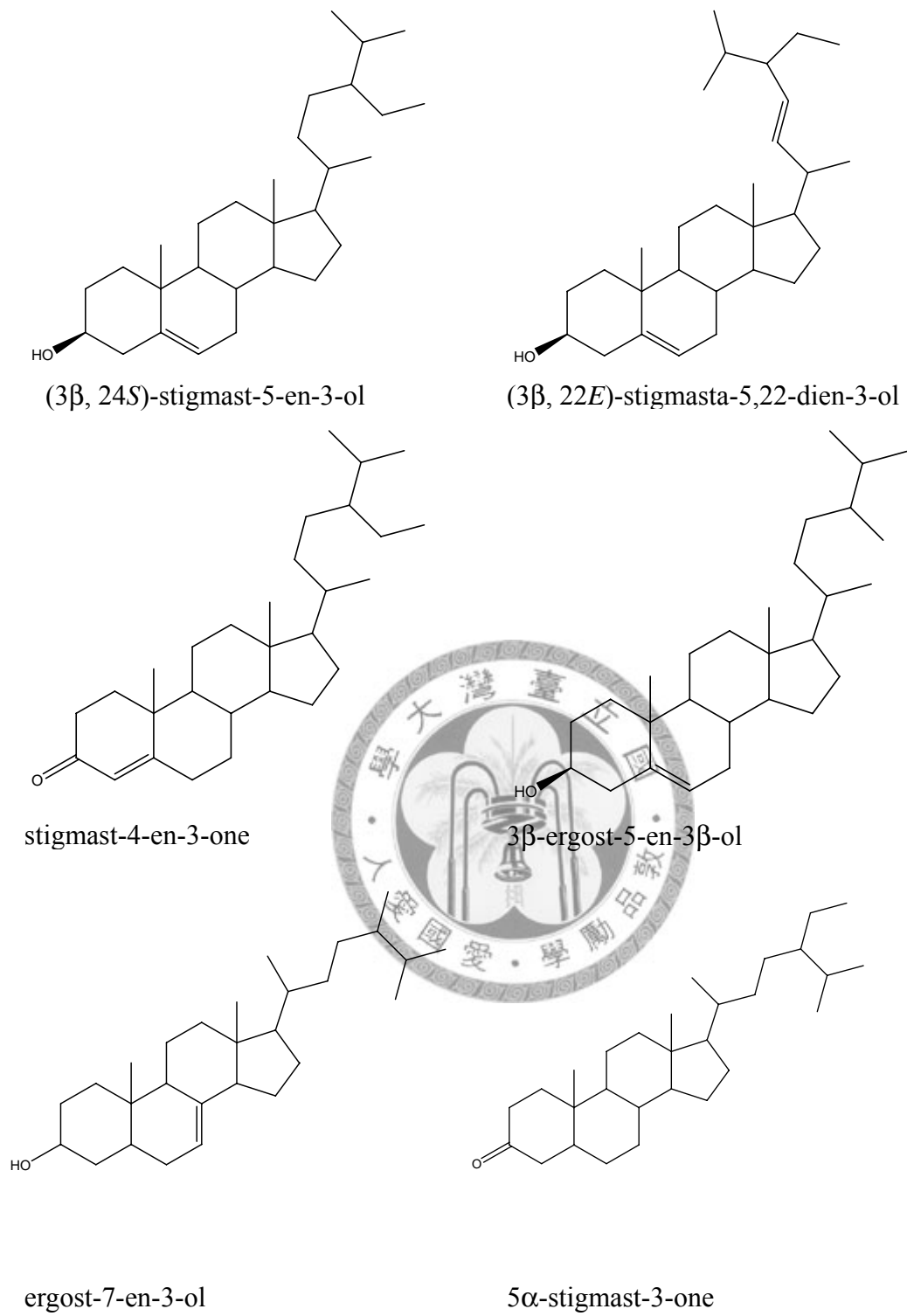


圖 26. 植物固醇結構

Figure 26. Structure of phytosterols / phytostanols

游離脂肪酸 (free fatty acid) 是植物油脂中另一含量較多的物質，黃等(2005)以壓榨薏仁油中分析，游離脂肪酸約占 3.8% (Wt%)，在這次實驗中，並沒有直接分離出游離脂肪酸，但在氣相層析質譜分析中，於各個區分層均有脂肪酸酯的出現，但主要集中於ABE-Hex-Oil-MeOH區分層，脂肪酸甲酯的總和佔該區分40.0%，且均為甲酯化之脂肪酸。脂肪酸甲酯在天然植物油脂中並非主要之脂肪酸存在形式，即使有，含量均不高，一般是植物油脂以化學反應進行轉酯作用 (transesterification) 產生，其用途是在製作生化柴油 (biodiesel) (謝，2004)，另外在氣相層析的分析上，也常會利用衍生化反應 (derivation)，以遮蔽特定官能基來提高分析的效果，其中甲酯化反應便常用來與游離脂肪酸反應使其產生脂肪酸甲酯，以利於分析 (Christie, 1973)。本次實驗中對於樣品前處理，並未有進行衍生為甲酯化的反應，雖然是以甲醇為沖提液流洗，但於後續的減壓濃縮 (45°C, 40 mmHg) 及保存上，並未有接觸高溫與酸催化之情況，因此甲酯化脂肪酸的檢出可能是來自於標準質譜比對上，程式對於圖譜的誤判。脂肪酸甲酯與脂肪酸酯其差異只在於羧基 (carboxy group) 是否有酯化，因此並無法將其有效分離開來，而使得兩化合物於相同滯留時間出現，顯示為單一峰，因此其質譜片段中便夾雜兩種化合物的混合片段，但彼此間的質譜片段差異並不大，但由於程式進行標準質譜比對時，掃描質譜片段中出現脂肪酸甲酯的片段，因而判斷為脂肪酸甲酯化合物，圖27為一例之GC / MS 質譜圖比較，(A)之未知化合物比對結果顯示為9, 12-Octadecadienoic acid methyl ester，但實際其質譜圖與9, 12-Octadecadienoic acid 亦相差無幾，分子離子峰同時出現有294與280。而在看到非皂化物區分層之氣相層析質譜分析結果，與其他區分層不同的是，此部分並無比對出脂肪酸酯，而是脂肪酸，其原因來自於皂化過程中利用鹼溶液進行甘油酯的水解皂化，脂肪酸酯也同時反應，因此在皂化完成後，形成皂化物的脂肪酸隨水被洗去，而在非皂化物中，殘留的是無酯化之游離脂肪酸，因此在非皂化物區分層中便不會有脂肪酸酯與脂肪酸混雜的現象，以此驗證上述推論。因此分析中為脂肪酸酯，實際則為脂肪酸與脂肪酸酯混雜，且脂肪酸為合理之主要成分。

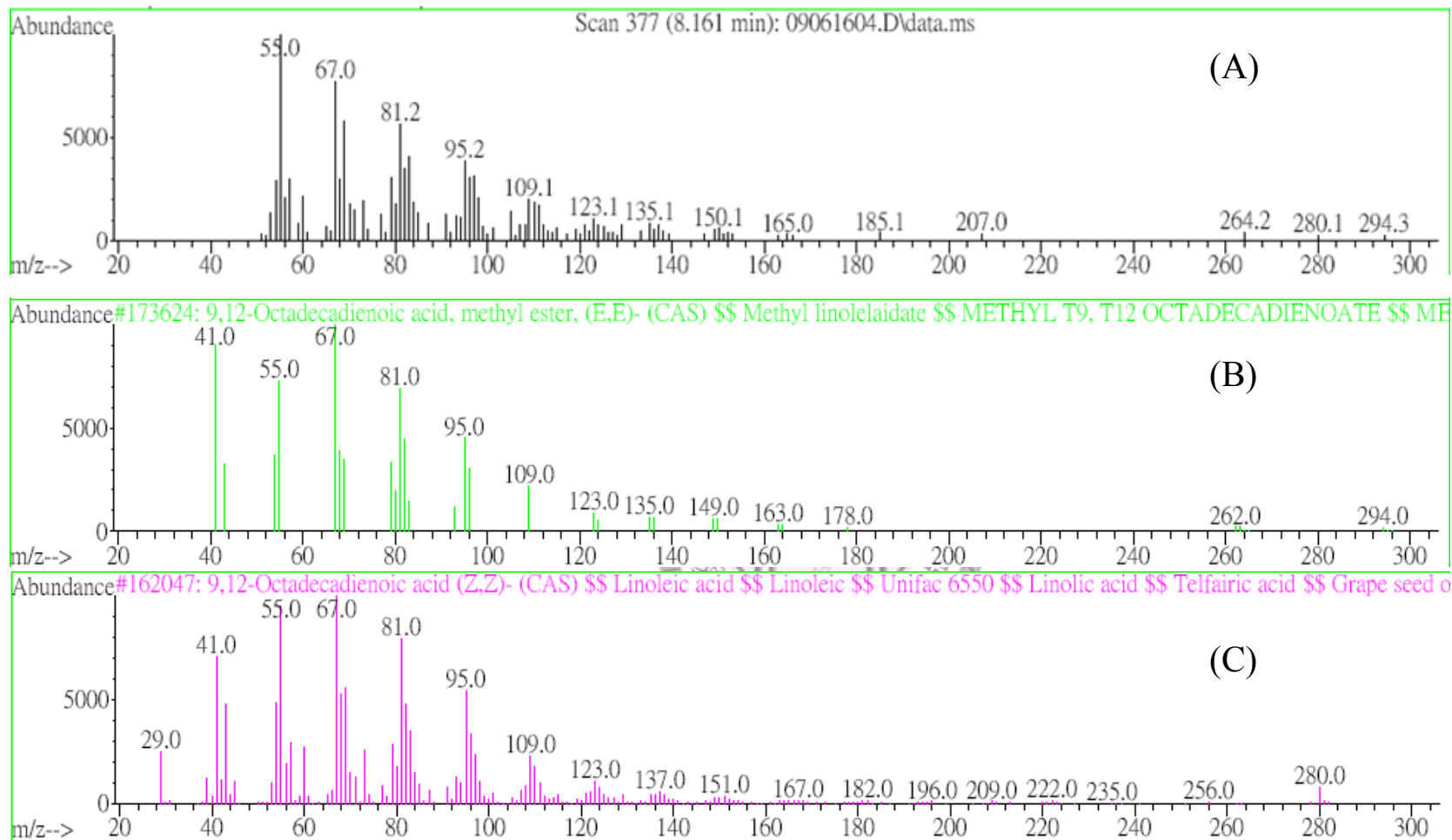


圖 27. GC / MS 質譜圖 ( (A) 未知化合物 (B) 9, 12-Octadecadienoic acid, methyl ester (C) 9, 12-Octadecadienoic acid )

Figure 27. GC / MS mass spectrum ( (A) Unknown compound (B) 9, 12-Octadecadienoic acid, methyl ester (C) 9, 12-Octadecadienoic acid )

薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層非皂化物的分析結果中，此部分主要成分為植物固醇，與其他區分層相同的是 $\beta$ -sitosterol 依然為其主要固醇成分(5.0%)，其次在滯留時間 16.0 min 時出現一無標準質譜可比對之物質，約占比例為 4.7%，以質譜圖觀察為一植物固醇類物質，且與 ergosta7-en-3-ol 相類似(Epiergostanol-like)，但並無標準質譜可比對，Wu 等 (2007)以薏仁麩皮正己烷萃取物之非皂化物進行氣相層析質譜儀分析，總離子圖譜如圖 28 所示，分析結果相比較，於 $\beta$ -sitosterol 峰出現後緊接之另一高峰為 ergostanol，將 ergostanol 與 ergosta7-en-3-ol 相比兩者差別只於七號碳與八號碳之間的雙鍵(圖 29)，兩者質譜相類似，因此推測於 16 min 出現之峰可能為 ergostanol。另外於滯留時間 13.2 min 出現 squalene，Wu 等亦分析出此化合物，但由於分析條件的差異(column 與 oven temperature program 均不同)，Wu 等分析出之甘蔗原素(policosanol, PC) (docosanol, tetracosanol, hexacosanol, octacosanol)與生育醇(tocopherol) 於本次實驗中並未出現，可能原因為，此類物質出現之滯留時間約莫在 squalene 前後，但在本次實驗於滯留時間 8 min 到滯留時間 15 min 之間基線出現起伏飄移，於此區段分析效果大打折扣，且由吳等的結果可知甘蔗原素於薏仁油非皂化物中屬於含量微少的化合物，未如 squalene 可分析出來，而被雜訊所蓋住。另外一類較為特殊之化合物 primary fatty acid amide (oleamide)，在本次實驗中於 ABE-Hex 非皂化物中並未出現，原因可能與其含量微少以及滯留時間可能在 8 min 到 15 min 區間，但此類物質於其他區分層卻有分析出，ABE-Hex-Oil-EA 及 ABE-Hex-Oil-MeOH 於滯留時間 9.3 min 分析出具有 (Z)-9-octadecenamide。

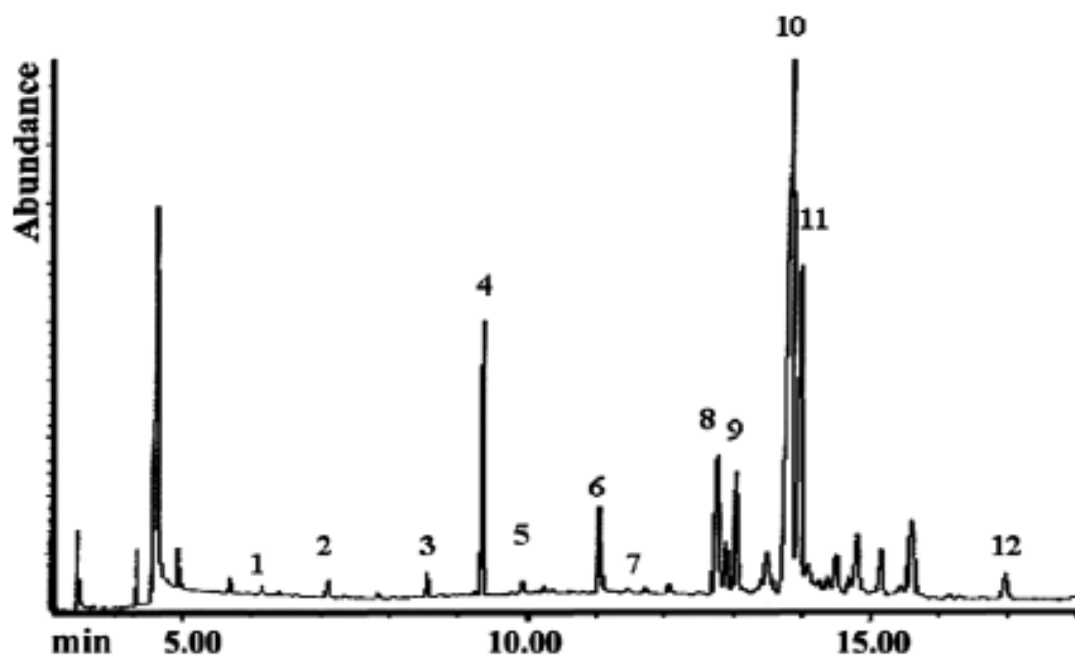


圖 28. 薏仁油非皂化物 GC / MS 總離子圖譜

Figure 28. GC / MS total ion chromatogram of unsaponifiable matter of adlay oil.

(1, oleamide; 2, docosanol; 3, tetracosanol; 4, squalene; 5, hexacosanol; 6, tocopherol; 7, octacosanol; 8, campesterol; 9, stigmata-5,22-dien-3-ol; 10,  $\beta$ -sitosterol; 11, ergostanol; 12, friedelin.)

( Wu et al., 2007 )

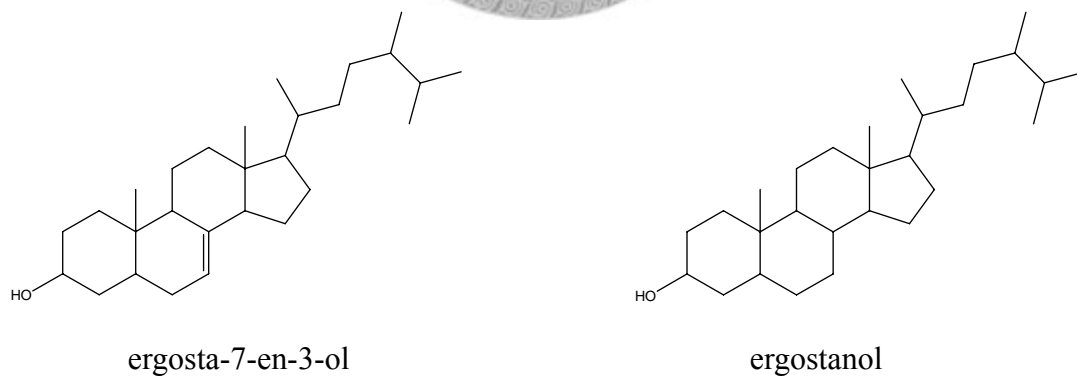


圖 29. ergosta-7-en-3-ol 與 ergostanol 結構

Figure 29. Structure of ergosta-7-en-3-ol and ergostanol

## 二、薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層之植物化學物與機能性

在中國傳統藥學典籍上記載以及傳統醫學中，薏苡均具有消炎與抗腫瘤的功能，多年來也陸續有研究指出，薏苡籽實及其萃取物確實具有抑制腫瘤生長及增加延命率等生理功效，且證實帶有麩皮之糙薏仁其生理功效較精白薏仁為佳。早年日本學者於薏苡仁中鑑定出之有效成分分別為薏仁酯與  $\alpha$ -monolino-lein(Tokuda et al., 1990)，兩者均是屬於低極性之化合物，近年中國大陸學者開發以薏苡仁經超臨界二氧化碳萃取之油狀物質，乳化後製作成針劑，已證實具有抗腫瘤生長與抗惡質化之功效(李等，1994；李，1996)。由此推測，薏苡籽實中之低極性區分層，尤其是富含油脂之薏苡麩皮，一定含有某些具功能性之活性成分。而針對此部分，至今仍然是所知有限，因此本實驗以氣相層析質譜儀分析輔以化學分離純化，期能尋找出可能之有效機能性成分。

將實驗分析所得之化合物歸類於表 12，經質譜比對共可得 32 個可能之化合物，7 個植物固醇 (phytosterol)；3 個單酸甘油酯 (monoglyceride)；7 個脂肪酸與其酯化物 (free fatty acid & ester)；1 個醯胺 (amide)；1 個醇類 (alcohol)；1 個烯類 (alkene)；7 個醛類 (aldehyde)；5 個其他類化合物 (others)。另外經分離純化鑑定所得之化合物為 3-O-feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol、stigmasterol、 $\beta$ -sitosterol 與 1,2-, 1, 3-diglyceride 混合物。



表 12. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層可能成分

Table 12. Possible composition of ABE-Hex

Classification	compound	
phytosterol	5 $\alpha$ -stigmast-3-one	
	ergosta-7-en-3-ol	
	ergostanol	
	3 $\beta$ -ergost-5-en-3-ol	
	(3 $\beta$ , 22 <i>E</i> )-stigmasta-5,22-dien-3-ol ( stigmasterol )	
	(3 $\beta$ , 24 <i>S</i> )-stigmast-5-en-3-ol ( $\beta$ -sitosterol )	
	stigmast-4-en-3-one ( $\beta$ -sitostenone )	
	3- <i>O</i> -feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol	
	monoglyceride	Hexadecanoic acid
		2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester
( <i>Z</i> )-9-Octadecenoic acid		
2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester		
( <i>Z</i> , <i>Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid		
free fatty acid & ester	2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	
	Hexadecanoic acid ( & methyl ester )	
	( <i>Z</i> )-9-Octadecenoic acid ( & methyl ester )	
	( <i>Z</i> , <i>Z</i> )-9,12-Octadecadienoic acid ( & methyl ester )	
	( <i>Z</i> )-7-Hexadecenoic acid ( & methyl ester )	
	Eicosanoic acid ( & methyl ester )	
	Docosanoic acid ( & methyl ester )	
	Ethyl linoleate	
	( <i>Z</i> )-9-Octadecenamide	
	amide	( <i>Z</i> )-9-Octadecenamide
alcohol	9-Octadecen-1-ol	
alkene	2,6,10,15,19,23-hexamethyl-	
	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene ( Squalene )	
aldehyde	9-Octadecenal	
	Tetradecanal	
	Pentadecanal	

續 (continued)

表 12. 薏仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層可能成分 (續)

Table 12. Possible composition of ABE-Hex (continued)

Classification	compound
others	(Z)-9,17-Octadecadienal
	Octadecanal
	Hexadecanal
	13-Tetradecenal
	(Z)-9-Octadecenoic acid
	2,3-dihydroxypropyl ester
	Heptadecanoic acid-16 methyl-methyl ester
	cyclododecane
	Cyclododecyne
	9-Oxabicyclo[6.1.0]nonane



植物固醇 (phytosterols) 與動物體中存在的膽固醇 (cholesterol) 功能(穩定細胞上之磷脂雙層膜) 和結構 (steroid nucleus, 3 $\beta$ -hydroxy group, 5, 6 double bond) 均相似，膽固醇之支鏈為八個碳組成，植物固醇則為九或十個碳。一般植物中存在的植物固醇為  $\beta$ -sitosterol、campesterol 與 stigmasterol, ergosterol 則為酵母、玉米、棉籽、花生仁、與亞麻籽的主要固醇種類 (Moreau et al., 2002)。植物固醇歷年來的研究中，最為知名的為抑制膽固醇吸收進而降低血液中膽固醇濃度，因而可減少心血管疾病的風險因子。Peterson 等 (1951, 1952, 1953) 發現大豆固醇可抑制小雞 (chick) 血液與肝臟中膽固醇的提升並減少動脈粥狀硬化病灶 (atherosclerotic lesion) 的嚴重程度。Pollak (1953) 首先在人體實驗中發現，每日攝食植物固醇 ( 5.7g - 10g, 2 weeks ) 可顯著降低血液中膽固醇達 27.7%。陸續有超過 52 篇的人體實驗文獻指出每日攝食植物固醇  $13 \pm 1g$ ，持續 3 到 5 周，可降低 20% 的血液中膽固醇，且發現即使植物固醇的來源與製備方法不同但皆具有相似之效果與影響。

近年針對單一植物固醇化合物的機能性，有抑制腫瘤細胞增生 (antitumor proliferation)、抗發炎 (anti-inflammatory) 以及抗血液凝集 (antiagulant)，而較特殊者為植物固醇酯 3-O-feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol 具有促進 Gold hamster 卵巢濾泡細胞生長與刺激排卵的激素調控機制 (Yoshikazu et al., 1988)。Iwatsuki 等 (2003) 發現多種阿魏酸固醇酯 (sterol ferulates) 具有抑制促癌物質：Epstein-Barr virus 的活性。

單酸甘油酯為為油脂中存在的主要成分之一，其甘油上只與一脂肪酸酯化，依據其酯化的位置為 sn-1 或 sn-2 可分為  $\alpha$ -monoglyceride 及  $\beta$ -monoglyceride。目前針對薏仁的研究中指出，薏仁甲醇萃取物中的  $\alpha$ -monolinolein 可抑制 Epstein-Barr virus (EBV) 活性，EBV 與部分癌症及免疫疾病相關，鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma)、柏奇氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma) 均與 EBV 有關，因此推斷薏仁中之抗癌功效可能來自於單酸甘油酯。在本次實驗分析中可得三種單酸甘油酯，其接上的脂肪酸分別為 C16:0、C18:1 與 C18:2，於文

獻上並無直接預防及抑制癌症之報告，但 Hexadecanoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester 在 Caco-2 細胞實驗中發現可顯著提升抗癌藥物 daunomycin 的蓄積與穿透 (Konishi et al., 2004)，另外 (Z)-9-Octadecenoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester，(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid 2-hydroxy-(hydroxylmeth-yl)ethyl ester 在動物實驗中證實可抑制 mono glyceride lipase 與 fatty acid amide hydrolase 的酵素活性 (Ghafouri et al., 2004)，因此推測可幫助部分機能性成分，如  $\alpha$ -monolinolein 不被酵素水解而可保留其活性。

初級脂肪酸醯胺 (primary fatty acid amides, PFAMs) 為生物體內生性調節神經功能的一類化合物，受脂肪酸或其衍生物之調控，部分化合物尤其是油酸醯胺 (oleamide) 類化合物之研究最為徹底 (Hanu et al., 1999)。油酸醯胺最先由被剝奪睡眠 (sleep deprivation) 的貓腦脊髓液 (cerebrospinal fluid) 中分離出來 (Bradshaw and Walker, 2005)，為一影響睡眠的訊息傳遞因子，Leggett 等 (2004) 進一步探討其機制發現油酸醯胺及其類似物具有抑制 cannabinoid receptors 受質 (無論為 agonist 或 antagonist) 的結合，並與部分酵素表現有關。(Z)-9-octadecenamide 為油酸醯胺類化合物的一種，其機能性皆與睡眠調節之訊息分子與傳遞相關。但此類物質屬於動物體神經中樞系統中之訊息傳遞相關物質，在目前的科學文獻中並無由植物體中分離純化而得，此部分僅有 Wu 等 (2007) 的文獻中提出在針對薏仁麩皮油脂非皂化物的 GC / MS 分析中，以標準質譜資料庫比對，並以標準品予以定性定量，而得一間接之證明。固 primary fatty acid amides 之是否存在與否需倚靠往後之進一之科學實驗證明之。茲將 ABE-Hex 成分機能性文獻整理於表 13。

表 13. ABE-Hex 成分機能性文獻整理

Table 13. Active components in ABE-Hex

Compound	Model	Outcome	Reference
stigmast-4-en-3-one	Albino Wister rat ( male )	Vasodepressor effect	Kolak et al., 2001
	<i>Candida albicans</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphyococcus aureau</i> , <i>Proteus vulgaris</i>	Antifungal & antibacterial activity	Rahman and Gray, 2005
	P-388, A-549, HT-29 cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2004
	P-388, A-549, HT-29 cell lines	Antitumor proliferation	Lin et al., 2004
	P-388, HT-29 cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2005
	P-388, HT-29 cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2006
	A2780 cell lines	Antitumor proliferation	Cao et al., 2006
3- <i>O</i> -feruloyl-5 $\beta$ -sitostanol	Gold hamster (female)	Induction of ovulation and stimulation of ovarian follicular growth.	Yoshikazu et al., 1988
$\beta$ -sitosterol & stigmasterol	Rat	Hypotensive activity	Faizi et al., 1998
	<i>Entamoeba histolytica</i> HM1-1MSS, <i>Giardial lamblina</i> IMSS:0989:1, MDA-MB-231, Hep-G2 cell lines	Antiprotozoal Antitumor proliferation	Arrieta et al., 2001 Setzer et al., 2000
	ICR mouse (12- <i>O</i> -tetradecanoylphorbol-13-aceta te ( TPA ) induced )	Antiinflammatory	Akihisa et al., 2000
	Rabbit platelets	Anticoagulant	Tsai et al., 2000
	G361 cell lines	Antitumor proliferation	Houghton et al., 2000

續 (continued)

表 13 ABE-Hex 成分機能性文獻整理 (續)

Table 13 Active components in ABE-Hex (continued)

Compound	Model	Outcome	Reference
	CCRF-CEM, HL-60, PC-3, and HA22T cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2002
	Human leukocyte elastase	Inhibition of enzyme	Mitaine-Offer et al., 2002
	Wister rat (peritoneal polymorphonuclear leukocyte)	Antioxidation & antiinflammatory	Navarro et al., 2001
	P-388, HT-29, or A549 cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2003
	New Zealand rabbit platelets	Anticoagulant	Lin et al., 2003
	Recombinant Cyclooxygenase-2	Inhibition of enzyme	Zhang et al., 2004
	Raji cell line (induction of Epstein-Barr virus early antigen by TPA)	Antitumor promoter	Iwatsuki et al., 2003
	Rat platelets	Anticoagulant	Jin et al., 2004
	Male Wister rat (ulceration induced by absolute ethanol administration)	Gastroprotective	Arrieta et al., 2003
	Bowes human melanoma cell, MCF 7 cell line	Antitumor proliferation	Nguyen et al., 2004
	Human platelets	Anticoagulant (inhibition of production of 12(S)-Hydroxyeicosatetraenoic acid)	Schneider et al., 2004
	P-388, HT-29, A549 cell lines	Antitumor proliferation	Chang et al., 2003
	P-388, HT-29 cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2005
	P-388, HT-29 cell lines	Antitumor proliferation	Chen et al., 2006

續 (continued)

表 13. ABE-Hex 成分機能性文獻整理 (續)

Table 13. Active components in ABE-Hex (continued)

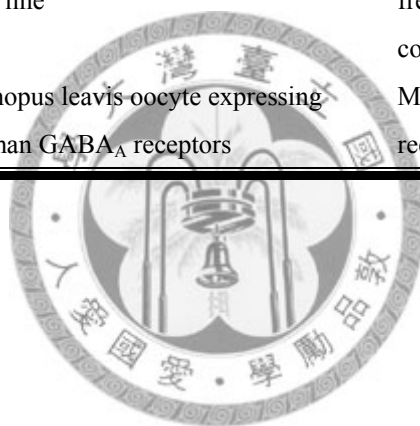
Compound	Model	Outcome	Reference
	HL-60, WI-38, Hela cell lines	Antitumor proliferation	Block et al., 2004
	Hep2 cell lines	Antitumor proliferation	Matos et al., 2006
	HepG2 cell lines	Antitumor proliferation	He et al., 2006
hexadecanoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxyl methyl)ethyl ester	Caco-2 cell line	Significantly increased of daunomycin accumulation	Konishi et al., 2004
(Z)-9-octadecenoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester & (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	SD rat cerebellum cytosol and membrane	Inhibition of monoglyceride lipase and fatty acid amide hydrolase	Ghafouri et al., 2004
(Z)-9-octadecenamide	Rat embryonal cortical pyramidal cells	Neuroregulatoric	Verdon et al., 2000
	CD-1 mouse brain synaptoneuroosomes	Neuroregulatoric	Verdon et al., 2000
	Rat pituitary GH <sub>3</sub> cells	Channel blocker ( <i>erg</i> current)	Liu and Wu, 2003
	Human neuroblastoma MC-IXC cells homogenate	Induction of enzyme (activated choline acetyltransferase activity)	Heo et al., 2003
	Mouse	Behavioural symptoms (chemo-preventive against Alzheimer's disease)	Heo et al., 2003

續 (continued)

表 13 ABE-Hex 成分機能性文獻整理 (續)

Table 13 Active components in ABE-Hex ( continued )

Compound	Model	Outcome	Reference
	Wistar rat mesenteric artery segment ( male )	Vasodilative	Hoi and Hiley, 2006
	Xenopus leavis oocyte expressing human GABA <sub>A</sub> receptors	Neuroregulatoric ( increased GABA <sub>A</sub> and glycine current )	Coyne et al., 2002
	HeLa cell membranes transfected with 5-hydroxytryptamine <sub>7</sub> receptors ( 5-HT <sub>7</sub> )	Receptor blocking	Hedlund et al., 1999
	BETC , MG63, MDCK, PC12, T24, cell line	Induced intracellular free Ca <sup>2+</sup> concentration	Lo et al., 2001
	Xenopus leavis oocyte expressing human GABA <sub>A</sub> receptors	Modulation of receptors	Lees et al., 1999





## 捌、結論

本實驗研究台灣本土栽植之薏苡仁麩皮（台中選育四號）萃取物之低級性區分層（薏苡仁麩皮乙醇萃取物正己烷區分層）的成分分析，利用氣相層析質譜分析儀，在去除三酸甘油酯後，分析所得之化合物共可得 32 個化合物，7 個植物固醇（phytosterol）；3 個單酸甘油酯（monoglyceride）；7 個脂肪酸與其酯化物（free fatty acid & ester）；1 個醯胺（amide）；1 個醇類（alcohol）；1 個烯類（alkene）；7 個醛類（aldehyde）；5 個其他類化合物（others）。另外經分離純化鑑定所得之化合物為 3-*O*-feruloyl-5 $\beta$ -sitostan-3-ol、stigmasterol、 $\beta$ -sitosterol 與 1,2-, 1, 3-diglyceride 混合物。由此分析所得之化合物進一步搜索文獻，薏苡仁低極性區分層中可能具功效性的成分為：植物固醇、單酸甘油酯以及脂肪酸醯胺。由文獻整理(表 13)可知，其功效涵蓋有抑制腫瘤細胞生長、調節血脂與抗血液凝集以降低心血管疾病風險因子、卵巢濾泡細胞生長與刺激排卵、促進抗癌藥物的蓄積與穿透、訊息傳遞因子的調節作用。本研究之結果為機能性成分之定性分析，因此可以此為基礎，針對成份所在之區分層做進一步的純化與定量之研究，而有更加詳細之科學證據為後盾，為日後開發有效機能性產品之依據。

而在整體成分分析的結果，除了皂化物之外的各個區分層，其主要的成分並無法藉由氣相層析質譜分析輔以標準質譜資料庫比對的方式進行一個有效的分析，無法達到欲求的目的：廣泛並有效的去分析薏苡仁麩皮低極性區分層中的組成分。推測可能的原因為高分子量成分，如：三酸、雙酸甘油酯等，在經過本次實驗的區分後，依然為各區分層的主要成分，因此無法有效的進行分析，故在此部分的研究上，氣相層析質譜分析並無法做為一個快速並廣泛的分析方法，有賴於更進一步的研究已為之解答。

## 參考文獻

- 吉田清尚，相良長輝。1919。薏苡仁の成分に就て。東京化學會誌 40: 483-498。
- 六城雅彙、西原哲三、浮田忠之進、井口定男。1950。各種藥物の吉田肉腫に  
する増殖阻止作用。Gann (Japanese J. Cancer Res.) 41: 91-92.
- 松島義一。1952。ハトムギの研究-1.その脂肪油成分並にパルミチン酸の藥理  
學的作用に就こ。日藥理誌。48: 109-126。
- 小山鷹二，大和正利。1955a。じゆずたま屬植物成分の研究第一報 (じゆずた  
ま Coix Lachryma-jobi L. 根の成分に就いて)。藥學雜誌 75: 699-701。
- 小山鷹二，大和正利。1955b。じゆずたま屬植物成分の研究第二報 (じゆずた  
ま Coixol の構造に就いて)。藥學雜誌 75: 702-704。
- 中山宗春。1960。薏苡仁抗癌作用之研究。日本外科學會誌。61: 234。
- 鈴木雅子，奥山清美。1977。ハトムギのえぐ味成分，3,4-ジヒドロオキシベ  
ソズアルデヒド配糖体の檢索。榮養と食糧 30: 419-421。
- 鄭丙祥，鈴木平光，早川清一，金振昊，西澤幸雄。1988。ハトムギ中の血漿  
コレステロール低下作用をもつ成分について。日食工誌。35: 618-623。
- 石黒幸雄，岡本賢治，阪本秀樹，園田洋次。1993。ハトムギもやし由來の新  
規抗菌性物質 Coixinden A, B。Nippon Nogeikagaku Kaishi 67: 1405-1410。
- 高德錚與梁純玲。1986。省產薏苡品質之檢定。台中農業改良產研究彙報 13:  
11-18。
- 李時珍 (明)。1990。本草綱目。大台北出版社。台北。
- 沈玉峰，周玉新，樓獻文，王清海，周良模。1991。超臨界流體色譜對油脂的  
分離測定。色譜 9(6): 379-382。
- 李鳳云，陳浩然，馮曉東，柳世英，姜力。1994。中藥薏苡仁抗腫瘤作用的研  
究。實用腫瘤學雜誌 3: 59。
- 黃士禮，陳瑤峯，江文章。1994。省產薏苡籽實中氨基酸、脂肪酸和一般組成

分分析。食品科學 21(1)：67-74。

李大鵬。1996。康萊特注射液治療原發性肺癌臨床報告。中醫雜誌 37:411-414。

黃士禮。1996。薏苡籽實貯藏條件、抗突變效應及抗腫瘤效應之研究。國立臺灣大學食品科技研究所博士論文。台北。

蔡至宏。1997。薏苡種皮水溶性物質之抗致突變性及其分離與純化。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

徐明麗。1998。薏仁抗過敏與抗腫瘤之研究。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

簡雅琳。1998。薏苡殼油溶性萃取物的抗突變性成分之分離與純化。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

雷正杰，張忠義，王鵬，吳惠勤。1999。薏苡仁油脂肪酸組成分析。中藥材 22(8)：405。

黃士禮與江文章。1999。薏以籽實各部位之組成及其丙酮萃取液之抗突變作用。食品科學 26(2)：121-130。

林方宜。1999。薏苡種皮油溶性成分之分離與純化。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

江文章，徐明麗，蘇瑞斌，龐飛。2000。薏仁加工食品輔助抑制腫瘤功效之評估。醫護科技學刊 2：113-122。

劉桂萍。2000。薏苡殼甲醇萃取物清除自由基成分之分離與純化。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

夏詩閔。2001。薏苡籽實萃取物對於大鼠卵巢性類固醇激素以及腦下腺黃體促進素和濾泡刺激素分泌之效應。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

郭靜娟。2001。薏苡籽實之抗氧化成分及其抑制自由基傷害之研究。國立臺灣大學食品科技研究所博士論文。台北。

葉芝嵐。2002。薏苡殼醇類萃取物對大鼠卵巢性類固醇激素分泌之效應。國立臺灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。

施純光。2004。薏仁對大腸癌形成之影響。國立臺灣大學食品科技研究所博士論文。台北。

李文聖。2004。生化柴油製程之監測。國立臺灣大學生物產業機電工程學系暨研究所碩士論文。台北。

向智敏，祝明，陳碧蓮，陳勇。2005。HPLC-MS 分析薏苡仁油中的甘油三酯成分。中國中藥雜誌 30(18)：1436-1437。

何崇麟。2005。單一菌株 ( *Rhodococcus erythropolis* NTU1 ) 與混合菌株 ( TN-4 ) 處理正十四烷之研究。臺灣大學化學工程學研究所碩士論文。台北

李明怡。2008。薏仁麩皮中防癌及抗發炎活性成分之分離與鑑定。國立臺灣大學食品科技研究所博士論文。台北。

Akihisa T, Yasukawa K, Yamaura M, Ukiya M, Kimura Y, Shimizu N, Arai K. 2000. Triterpene alcohol and sterol ferulates from rice bran and their anti-inflammatory effects. *J Agric Food Chem* 48 (6): 2313–2319.

Anders DE and Robinson WE. 1971. Cycloalkane constituents of the bitumen from Green River Shale. *Geochim Cosmochim Acta* 35(7): 661-678.

Mitaine-Offer AC, Hornebeck W, Sauvain M, Zeches-Hanrot M. 2002. triterpenes and phytosterols as human leucocyte elastase inhibitors. *Planta Med* 68: 930-932.

Arrieta J, Reyes B, Calzada F, Cedillo-Rivera R, Navarrete A. 2001. Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianun*. *Fitoterapia* 72(3): 295-297.

Arrieta J, Benitez J, Flores E, Castillo C, Navarrete A. 2003. Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphipterygium adstringens*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. *Planta Med* 69(10): 905-909.

Ary MB, Shewry PR, Richardson M. 1988. The amino acid sequence of a cereal Bowman-birk type trypsin inhibitor from seeds of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.). *FEBS Lett* 229(1): 111-118.

Block S, Baccelli C, Tinant B, Meervelt L, Rozenberg R, Jiwan JL, Llabres G, Pauw-Gillet MC, Quetin-Leclercq J. 2004. Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 65(8): 1165-1172.

Bradshaw HB and Walker JM. 2005. The expanding field of cannabimimetic and related lipid mediators. *Br J Pharmacol* 144(4): 459-465.

Browser J, McCourt PJ, Somerville CR. 1986. Fatty acid composition of leaf lipids determined after combined digestion and fatty acid methyl ester formation from fresh tissue. *Anal Biochem* 152(1): 141-145.

Cao S, Radwan MM, Norris A, Miller JS, Ratovoson F, Mamisoa A, Andriantsiferana R, Rasamison VE, Rakotonandrasana S, Kingston DGI. 2006. cytotoxic and other compounds from *didymochlaena truncatula* from the madagascar rain forest. *J Nat Prod* 69 (2): 284-286.

Chang KC, Duh CY, Chen IS, Tsai IL. 2003. A Cytotoxic butenolide, two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivative Formosan *Casearia membranacea*. *Planta Med* 69(7): 667-672.

Chen ZP, Cai Y, Phillipson JD. 1994. Studies on the anti-tumour, anti-bacterial, and wound-healing properties of dragon's blood. *Planta Med* 60(6): 541-545.

Chen JJ, Huang YC, Chen YC, Huang YT, Wang SW, Peng CY, Teng CM, Chen IS. 2002. Cytotoxic amides from *piper sintonense*. *Planta Med* 68(11): 980-985.

Chen. JJ, Huang HY, Duh CY, Chen IS. 2003. Cytotoxic Constituents of *Piper sintonense*. *Helv Chim Acta* 86(6): 2058-2064.

Chen. JJ, Huang HY, Duh CY, Chen IS. 2004. Cytotoxic Constituents from the stem bark of *zanthoxylum pistaciiflorum*. *J Chin Chem Soc* 51(3): 659-663.

Chen. JJ, Lin RW, Huang HY, Duh CY, Chen IS. 2004. Flavones and cytotoxic constituents from the stem bark of *muntingia calabura*. *J.Chin Chem Soc* 51(3): 665-670.

Chen JJ, Duh CY, Chen IS. 2005. Cytotoxic chromenes from *Myriactis humilis*. *Planta Med* 71(4): 370-372.

Chen JJ, Chou ET, Duh CY, Yang SZ, Chen IS. 2006. New cytotoxic tetrahydrofuran- and dihydrofuran-type lignans from the stem of *Beilschmiedia tsangii*. *Planta Med* 72(4): 351-357.

Christie WW. 1972. In topics in lipid chemistry (Gunstone, F. D., ed.). Paul Elek (Scientific Books), London. Vol. 3, pp. 171-197.

Coussens LM, Werb Z. 2002. Inflammation and cancer. *Nature* 420(6917): 860-867.  
Coyne L, Lees G, Nicholson RA, Zheng J, Neufeld KD. 2002. The sleep hormone oleamide modulates inhibitory ionotropic receptors in mammalian CNS in vitro. *Br J Pharmacol* 135(8): 1977-1987.

Cuzick J, Otto F, Baron JA, Brown PH, Burn J, Greenwald P, Jankowski J, La Vecchia C, Meyskens F, Senn HJ, Thun M. Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement. *Lancet Oncol* 10(5): 501-507.

Duh CY, Chen IS, Tsai IL, Chang KC. 2003. A Cytotoxic Butenolide, Two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivative Formosan *casearia membranacea*. *Planta Med* 69(7): 667-672.

Duke JA. 1992. Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. CRC Press. Boca Raton. Florida.

Diels O and Alder K. 1928. Synthesen in der hydroaromatischen Reihe. *Liebigs Annalen der Chemie* 460 (1): 98-122.

Faizi S, Siddiqui B, Saleem R, Aftab K, Shaheen F, Gilani AH. 1998. Hypotensive Constituents from the Pods of *Moringa oleifera*. *Planta Med* 64(3): 225-228.

Ghafouri N, Tiger G, Razdan RK, Mahadevan A, Pertwee RG, Martin BR, Fowler CJ. 2004. Inhibition of monoacylglycerol lipase and fatty acid amide hydrolase by analogues of 2-arachidonoylglycerol. *Br J Pharmacol* 143(6): 774-784.

Gupta GP, Nguyen DX, Chiang AC, Bos PD, Kim JY, Nadal C, Gomis RR, Manova-Todorova K, Massagué J. 2007. ID genes mediate tumor reinitiation during breast cancer lung metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104(49): 19506-19511.

Han JS, Rhee AH, Cheigh HS. 1987. A study on composition of polar lipid in adlay. *Korean J Food Soc Technol* 16(1): 29-35.

Han JS, Rhee AH, Cheigh HS. 1988. Changes of lipid in raw and precessed adlay powder during storage. *Korean J Food Soc Technol* 20(5): 691-698.

Hanu LO, Fales HM, Spande TF, Basile AS. 1999. A gas chromatographic–mass spectral assay for the quantitative determination of Oleamide in biological fluids. *Anal Biochem* 270(1): 159-166.

He X, Rui Hai. 2006. Cranberry phytochemicals: isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. *J Agric Food Chem* 54(19): 7069–7074.

Hedlund PB, Carson MJ, Sutcliffe JG, Thomas EA. 1999. Allosteric regulation by oleamide of the binding properties of 5-hydroxytryptamine<sub>7</sub> receptors. *Biochem Pharmacol* 58(11): 1807-13.

Heo HJ, Park YJ, Suh YM, Choi SJ, Kim MJ, Cho HY, Chang YJ, Hong B, Kim HK, Kim E, Kim CJ, Kim BG, Shin DH. 2003. Effects of oleamide on choline acetyltransferase and cognitive activities. *Biosci Biotechnol Biochem* 67(6): 1284-1291.

Heras B, Villar A, Navarro A. 2001. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of a sterol fraction from *sideritis foetens* CLEM. *Biol Pharm Bull* 24(5): 470-473.

Hoi PM, Hiley CR. 2006. Vasorelaxant effects of oleamide in rat small mesenteric artery indicate action at a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 147(5): 560-568.

Houghton PJ, Retsas S, Photiou A, Jackson SJ. 2000. In Vitro Cytotoxicity of Norviburtinal and Isopinnatal from *Kigelia pinnata* Against Cancer Cell Lines. *Planta Med* 66(8): 758-761.

Hovenkamp E, Demonty I, Plat J, Lütjohann D, Mensink RP, Trautwein EA. 2008. Biological effects of oxidized phytosterols: a review of the current knowledge. *Prog Lipid Res* 41(1): 37-49.

Huang BW, Chiang MT, Yao HT, Chiang W. 2005. The effect of adlay oil on plasma lipids, insulin and leptin in rat. *Phytomedicine* 12(6-7): 433-439.

Iwatsuki K, Akihisa T, Tokuda H, Ukiya M, Higashihara H, Mukainaka T, Iizuka M, Hayashi Y, Kimura Y, Nishino H. 2003. Sterol ferulates, sterols, and 5-alk(en)ylresorcinols from wheat, rye, and corn bran oils and their inhibitory effects on Epstein-Barr Virus activation. *J Agric Food Chem* 51 (23): 6683–6688.

Jin J, Lee S, Lee Y, Kim J, Heo J, Yun-Choi H. 2004. Platelet anti-aggregating triterpenoids from the leaves of *Acanthopanax senticosus* and the fruits of *A. sessiliflorus*. *Planta Med* 70(6): 564-566.

Jordan VC. 2007. Chemoprevention of breast cancer with selective oestrogen-receptor modulators. *Nat Rev Cancer* 7(1): 46-53.

Kolak U, Ari S, Birman H, Hasançebi S, Ulubelen S. 2001. Cardioactive diterpenoids from the roots of *Salvia amplexicaulis*. *Planta Med* 67(8): 761-763.

Kondo Y, Nakajima K, Nozoe S, Suzuki S. 1988. Isolation of ovulatory active substances from crops of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen* Stapf.). *Chem Pharm Bull* 36(8): 3147-3152.

Konishi T, Satsu H, Hatsugai Y, Aizawa K, Inakuma T, Nagata S, Sakuda SH, Nagasawa H, Shimizu M. 2004. Inhibitory effect of a bitter melon extract on the P-glycoprotein activity in intestinal Caco-2 cells. *Br J Pharmacol* 143(3): 379-387.

Kritchevsky D and Chen SC. 2005. Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutr Res* 25: 413-428.

Lees G, Edwards MD, Hassoni AA, Ganellin CR, Galanakis D. 1999. Modulation of GABA<sub>A</sub> receptors and inhibitory synaptic currents by the endogenous CNS sleep regulator *cis*-9,10-octadecenoamide (cOA). *Br J Pharmacol* 124(5): 873-882.

Leggett JD, Aspley S, Beckett SR, D'Antona AM, Kendall DA. 2004. Oleamide is a selective endogenous agonist of rat and human CB1 cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol* 141(2): 253-262.



Li DP, Huang JM, Su WA, Shen KK, Jiang LL, Shi JY. 1999. The analysis of chemical composition in the Coix lipid. *Trad Chin Drug Res & Clin Pharmacol* 10, 35-37.

Li DP. 2001. Clinical applications of Kanglaite injection (KLT). *Jpn J Clin Oncol* 2(12): 300-302.

Lin WY, Kuo YH, Chang YL, Teng CM, Wang EC, Ishikawa T, Chen IS. 2003. Anti-platelet aggregation and chemical constituents from the rhizome of *Gynura japonica*. *Planta Med* 69(8): 757-764.

Liu YC, Wu SN. 2003. Block of erg current by linoleoylamide, a sleep-inducing agent, in pituitary GH3 cells. *Eur J Pharmacol* 458(1-2): 37-47.

Lo YK, Tang KY, Chang WN, Lu CH, Cheng JS, Lee KC, Chou KJ, Liu CP, Chen WC, Su W, Law YP, Jan CR. 2001. Effect of oleamide on  $Ca^{2+}$  signaling in human bladder cancer cells. *Biochem Pharmacol* 62(10): 1363-1369.

Matos MFC, Leite LISP, Brustolim D, de Siqueira JM, Carollo CA, Hellmann AR, Pereira NFG, da Silva DB. 2006. Antineoplastic activity of selected constituents of *Duguetia glabriuscula*. *Fitoterapia* 77(3): 227-229.

Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB. 2002. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis and health-promoting uses. *Prog Lipid Res* 41(6): 457- 500.

Muller AJ, DuHadaway JB, Donover PS, Sutanto-Ward E, Prendergast GC. 2005. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy. *Nat Med* 11(3): 312-319.

Nakao J, Ooyama T, Chang WC, Murota S, Orimo H. 1985. Platelets stimulate aortic smooth muscle cell migration in vitro. Involvement of 12-L-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid. *Atherosclerosis* 43(2-3): 143-150.

Newman DJ, Cragg GM. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* 70(3): 461-477.

Nguyen AT, Malonne H, Duez P, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M, Fontaine J. 2004. Cytotoxic constituents from *Plumbago zeylanica*. *Fitoterapia* 75(5): 500-504.

Numata M, Yamamoto A, Moribayashi A, Tamada H. 1994. Antitumor compounds isolated from the Chinese herbal medicine *Coix lachryma-jobi*. *Planta Med* 60(4): 356-359.

Ohtsubo KI, Yanagi SO, Yanase H. 1985. Properties of a trypsin inhibitor from Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.var. *ma-yuen* Stapf). *Agric Biol Chem* 49(7): 1985-1991.

Otsuka H, Hirai Y, Nagao T, Yamaski K. 1988. Anti-inflammatory activity of benzoxaninoids from roots of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen*. *J Natu Prod* 51(1): 73-79.

Park Y, Okamura K, Mitsuyama S, Saito T, Koh J, Kyono S, Higaki K, Ogita M, Asaga T, Inaji H, Komichi H, Kohno N, Yamazaki K, Tanaka F, Ito T, Nishikawa H, Osaki A, Koyama H, Suzuki T. 2009. Uracil-tegafur and tamoxifen vs cyclophosphamide, methotrexate, fluorouracil, and tamoxifen in post-operative adjuvant therapy for stage I, II, or IIIA lymph node-positive breast cancer: a comparative study. *Br J Cancer* advance online publication 28 July.

Peterson DW. 1951. Effect of soybean sterols in the diet on plasma and liver cholesterol in chicks. *Proc Soc Exp Biol Med* 78(1): 143-147.

Peterson DW, Nichols Jr CW, Shneour EA. 1952. Some relationships among dietary sterols, plasma and liver cholesterol levels, and atherosclerosis in chicks. *J Nutr* 47(1): 57-65.

Peterson DW, Shneour EA, Peek NF. 1953. Dietary constituents affecting plasma and liver cholesterol in cholesterol-fed chicks. *J Nutr* 50(2): 191-201.

Pollak OJ. 1953. Reduction of blood cholesterol in man. *Circulation* 7(5): 702-706.

Qian J, Qin SL, Yang LQ, Chen YX, Shao ZJ, 2004. The clinical study of Gefitinib combination with Kanglaite injection in treatment of non-small-cell lung cancer. *Chin Clin Oncol* 9(6): 568-570.

Rahman MM and Gray AI. 2005. A benzoisofuranone derivative and carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* and their antimicrobial activity. *Phytochemistry* 66(13): 1601-1606.

Schneider I, Gibbons S, Bucar F. 2004. Inhibitory activity of *Juniperus communis* on 12(S)-HETE production in human platelets. *Planta Med* 70(5): 471-474.

Setzer WN, Setzer MC, Schmidt JM, Moriarity DM, Vogler B, Reeb S, Holmes AM, Haber WA. 2000. Cytotoxic components from the bark of *Stauranthus perforatus* from Monteverde. *Planta Med* 66(5): 493-494.

Sporn MB. 1976. Approaches to prevention of epithelial cancer during the preneoplastic period. *Cancer Res* 36(7 part 2): 2699-2702.

Soria JC, Kim ES, Fayette J, Lantuejoul S, Deutsch E and Hong WK. 2003. Chemoprevention of lung cancer *Lancet Oncol* 4(11): 659-669.

Sun SY, Hail N Jr, Lotan R. 2004. Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. *J Natl Cancer Inst* 96(9): 662-672.

Tanaka T and Takatsuto S. 2001. Sterols in the seeds of Job's Tears ( *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen*). *J. Oleo Sci* 50(12): 957-960.

Tsai IL, Duh, CY, Lee KH, Chen IS, Lin RW. 2004. New lignans and cytotoxic constituents from *Wikstroemia lanceolata*. *Planta Med* 70(3): 234-238.

Tokuda H, Matsumoto T, Konoshima T, Kozuka M, Nishino H, Iwashima A. 1990. Inhibitory effect on Epstein-Barr virus activation and anti-tumor promoting activities of Coix seed. *Planta Med* 56(6): 653-654.

Tsai IL, Lin WY, Teng CM, Ishikawa T, Doong SL, Huang MW, Chen YC, Chen IS. 2000. Coumarins and antiplatelet constituents from the root bark of *Zanthoxylum schinifolium*. *Planta Med* 66(7): 618-623.

Tsao AS, Kim ES and Hong WK. 2004. Chemoprevention of Cancer. *CA Cancer J Clin* 54(3): 150-180.

Ulrich CM, Bigler J, Potter JD. 2006. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for

cancer prevention: promise, perils and pharmacogenetics. *Nat Rev Cancer* 6(2): 130-140.

Ukita T and Tanimura A. 1961. Studies on the anti-tumor component in the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (Roman) stapf I. Isolation and anti-tumor activity of coixenolide. *Chem Pharm Bull* 9: 43-46.

Verdon B, Zheng J, Nicholson RA, Ganellin CR, Lees G. 2000. Stereoselective modulatory actions of oleamide on GABA<sub>A</sub> receptors and voltage-gated Na<sup>+</sup> channels *in vitro*: a putative endogenous ligand for depressant drug sites in CNS. *Br J Pharmacol* 129(2): 283-290.

Wall ME and Wani MC. 1995. Camptothecin and taxol: discovery to clinic--thirteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Res* 55(4): 753-760.

Woo JW, Lee MS, Lee HJ, Kim HS. 1989. Comparative studies on the dietary fiber, amino acid and lipid components of Yullmoo and Yeomjoo. *Korean J Food Soc Technol* 21(2): 269-275.

Woo JH, Li D, Wilsbach K, Orita H, Coulter J, Tully E, Kwon TK, Xu S, Gabrielson E. 2007. Coix seed extract, a commonly used treatment for cancer in China, inhibits NFκB and protein kinase C signaling. *Cancer Biol Ther* 6(12): 2005-2011.

Wu TT, Charles AL, Huang TC. 2007. Determination of the contents of the main biochemical compounds of Adlay (*Coix lachrymal-jobi*). *Food Chem* 104: 1509-1515.

Yamada, J. and Tomita, Y. 1996. Antimutagenic activity of caffeic acid and related compounds. *Biosc. Biotech. Biochem* 60(2): 328-329.

Yoshikazu K, Kenji N, Shigeo N, Shuetsu S. 1987. Isolation of ovulatory-active substances from crops of Job's tears. *Chem Pharm Bull* 36(8): 3147-3152.

Zhang Y, Jayaprakasam B, Seeram NP, Olson LK, DeWitt D, Nair MG. 2004. Insulin secretion and cyclooxygenase enzyme inhibition by Cabernet sauvignon grape skin compounds. *J Agric Food Chem* 52 (2): 228-233.