

## 抑制催乳素分泌的大麦芽活性成分

张晓娟, 徐德平\*

江南大学食品学院, 无锡 214122

**摘要:**为研究抑制催乳素(Prolactin, PRL)分泌的大麦芽活性成分, 将大麦芽经体积分数为75%的乙醇提取, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 分别得到石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和萃余物四个部分, 用苯甲酸雌二醇和黄体酮注射液建立乳腺增生小鼠模型检测大麦芽不同成分的活性, 得出大麦芽乙酸乙酯萃取物具有明显的抑制PRL分泌的作用。乙酸乙酯萃取物分别经过MCI柱、ODS柱和ODS-A柱分离, 得到四个单体化合物, 经核磁共振方法鉴定为: 3-甲基-1-十六烯酸乙酯甘油酯、3-甲基-1-十八烯酸乙酯甘油酯、3-十七烷酸-环己-1, 4-二烯酯、1, 4-环己二烯-3-十五烷酸甲酯。

**关键词:** 大麦芽; PRL; 分离; 结构鉴定

中图分类号: R284.2; R931.6

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.12.017

## Active Ingredient of Barley Malt for Inhibiting Prolactin Secretion

ZHANG Xiao-juan, XU De-ping\*

School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

**Abstract:** This study was aimed to explore active ingredient of barley malt for inhibiting prolactin secretion. The barley malt was extracted by 75% ethanol and then extracted by petroleum ether, ethyl acetate and n-butyl alcohol in turn. Estradiol benzoate and progesterone were used to establish the mice model of mammary hyperplasia in order to detect the activity of different components of barley malt. And the results showed that the ethyl acetate extract of barley malt had significant effect on inhibiting the secretion of PRL. Then the extract was isolated by MCI column, ODS column and ODS-A column respectively. Finally four monomeric compounds were identified by NMR: 3-methyl-1-gaidic acid ethyl ester glyceride, 3-methyl-1-octadecenic acid ethyl ester glyceride, 3-daturic acid-cyclohexyl-1, 4-dienylester, 1, 4-cyclohexadiene-3-pentadecic acid ester.

**Key words:** barley malt; PRL; isolation; structural identification

大麦芽(Barely malt)是禾本科一年生草本植物大麦(Barley)的成熟果实经发芽干燥而得, 不但含有供人体基础代谢所需的蛋白质、脂肪和碳水化合物, 还含有对人体有特殊功能的酶类、酚类和黄酮类等生物活性物质, 具有健脾消食、促进消化、降血糖、抗肿瘤、抗氧化等多种功能<sup>[1,2]</sup>。乳腺增生是乳腺癌的前奏, 其发病机制主要与体内雌激素、孕激素和催乳素的比例失衡有关。其中, 催乳素的含量增加是乳腺增生发病的重要原因。

大麦芽作为一种药食同源的材料, 还具有回乳的功能, 其回乳是通过抑制PRL分泌来完成的<sup>[3,4]</sup>, 目前认为大麦芽具有抗乳腺增生作用也是通过抑制PRL分泌, 但具体功能成分尚未明确。本研究利用

多种色谱方法, 从大麦芽活性部位分离出四种主要的活性成分, 为实现大麦芽抑制PRL分泌和抗乳腺增生作用提供理论基础。

## 1 材料与仪器

## 1.1 材料与试剂

大麦芽(江苏农垦大麦芽有限公司); 苯甲酸雌二醇注射液(上海通用药业股份有限公司, 批号100802); 黄体酮注射液(浙江仙琚制药股份有限公司, 批号110403); MCI柱、ODS柱、ODS-A柱(均为天津南开大学化学工厂产品); 无水乙醇、醋酸钠、氢氧化钠、冰醋酸、正丁醇、浓硫酸、茴香醛、乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 实验用水为去离子水; 小鼠催乳素ELISA试剂盒(上海江莱生物科技有限公司)。

实验用ICR小鼠(60只, 雌性, 6周龄, 20~25

g),上海斯莱克实验动物有限公司。

## 1.2 仪器与设备

RAT-100D 双层玻璃萃取罐(无锡申科仪器有限公司);SYB106-100 型恒流泵(天津市科器高新技术公司);MP-201 型真空泵(郑州长城科工贸易有限公司);R-501 型旋转蒸发器(上海申顺生物科技有限公司);W-O 升降恒温油浴锅(上海申顺生物科技有限公司);HSGF<sub>254</sub> 型薄层板(烟台江友硅胶开发有限公司);核磁共振仪(Avance 500 MHz, Bruer 公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 大麦芽不同萃取物的制备

称取 10 kg 大麦芽,粉碎,加入 100 L 双层玻璃萃取罐中,以料液比 1:8 g/mL 加入体积分数 75% 乙醇溶液,于 60 °C 条件下搅拌提取 6 h,过滤取出上清液,滤渣再按上述方法提取 2 次,合并所有清液减压浓缩。浓缩物按 1:1 加入去离子水,超声至悬浊状,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,分别减压浓缩得到石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和萃余物,于冰箱冷冻保存备用。

### 2.2 不同萃取物对乳腺增生的作用

#### 2.2.1 乳腺增生小鼠模型的建立

参考文献方法<sup>[5,6]</sup>并加以改进,正常对照组小鼠肌肉注射生理盐水 0.1 mL/只,1 次/天,连续注射 30 天。其余小鼠肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5 mg/kg,1 次/天,连续 25 天,继而改用肌肉注射黄体酮注射液 5 mg/kg,1 次/天,连续 5 天。

#### 2.2.2 分组及给药

ICR 小鼠适应性饲养一周后,随机分成 6 组(石油醚组、乙酸乙酯组、正丁醇组、萃余物组、模型组、正常对照组),每组 10 只。除正常对照组小鼠外,其余小鼠均建立乳腺增生小鼠模型。

造模完成后,实验组分别灌胃石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和萃余物各 500 mg/(kg·d);正常对照组和模型组分别给予等量蒸馏水,1 次/天,连续 1 个月。

#### 2.2.3 血清激素的测定

采用酶联免疫分析法,按照小鼠催乳素 ELISA 试剂盒说明书中的实验操作流程进行,分别测定各组小鼠血清中 PRL 的含量。

### 2.3 乙酸乙酯萃取物的分离

将具有抑制 PRL 分泌的乙酸乙酯萃取物取出

解冻,过滤,上 MCI 柱,依次用去离子水、体积分数为 50%、70%、90% 的乙醇进行梯度洗脱,薄层色谱法(TLC)跟踪检测洗脱液中的成分,并根据 R<sub>f</sub> 值和显色反应将具有相同成分的洗脱液合并,分别减压浓缩得到 A(50%)、B(70%)、C(90%)三个部分。

将 A、B、C 三个部分分别上 ODS 柱,用乙醇溶剂梯度洗脱,流速 20 mL/min,洗脱液用试管收集,TLC 法跟踪检测洗脱液中的成分,并根据 R<sub>f</sub> 值和显色反应将具有相同成分的洗脱液合并,分别减压浓缩得到 I、II、III、IV。

将 I、II、III、IV 分别反复上 ODS-A 柱,用乙醇溶剂梯度洗脱,流速 6 mL/min,洗脱液用 15 mL/管自动收集器收集,TLC 法跟踪检测洗脱液中的成分,并根据 R<sub>f</sub> 值和显色反应将具有相同成分的洗脱液合并,直至得到四个纯化合物:1、2、3、4。

### 2.4 结构鉴定

以二甲基亚砜(DMSO)为溶剂,四甲基硅烷(TMS)为内标物,将得到的化合物经氢谱(<sup>1</sup>H NMR)和碳谱(<sup>13</sup>C NMR)等光谱数据分析,确定其结构。

### 2.5 统计分析

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,数据均以平均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。组间比较采用 *t* 检验,若 *P* < 0.05 表示有显著性差异。

## 3 结果与分析

### 3.1 大麦芽不同萃取物抗 PRL 分泌的检测结果

大麦芽不同萃取物对各组小鼠的血清 PRL 水平影响如表 1 所示。

表 1 大麦芽不同萃取物对模型小鼠 PRL 的影响( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect on different extracts of barely malt on PRL in model mice( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	血清 PRL SerumPRL (pg/mL)
正常对照组 Control	214.06 ± 11.37 *
模型组 Model	345.75 ± 24.63
石油醚组 Petroleum ether extract	336.24 ± 15.76
乙酸乙酯组 Ethyl acetate extract	243.13 ± 13.84 * *
正丁醇组 n-Butyl alcohol extract	296.34 ± 23.75
萃余物组 Remaining extract	351.33 ± 13.47

注:与模型组比较: \* *P* < 0.01, \*\* *P* < 0.05。

Note: Compare with Model, \* *P* < 0.01, \*\* *P* < 0.05.

由表 1 的数据可以得出:模型组小鼠的血清 PRL 水平(*P* < 0.01)明显高于正常对照组的水平,

说明小鼠乳腺增生模型的制备是成功的<sup>[4,5]</sup>。与模型组比较,乙酸乙酯组小鼠的血清 PRL 水平明显降低,差异显著( $P < 0.05$ )。石油醚组、正丁醇组和萃余物组均无显著变化。结果表明大麦芽乙酸乙酯萃取物具有明显的抑制 PRL 分泌的作用,大麦芽石油醚萃取物、正丁醇萃取物和萃余物抑制 PRL 分泌的作用不明显。

### 3.2 大麦芽抗 PRL 活性成分的结构鉴定

从具有抗 PRL 活性的乙酸乙酯萃取物中分离到主要的 4 个化合物,其化学结构分析如下:

**化合物 1** 无色脂状,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。<sup>1</sup>H NMR (DMSO, 500 MHz)  $\delta$ : 5.30 (1H, s), 3.96 (2H, d,  $J = 3.2$  Hz), 3.73 (2H, d,  $J = 3.2$  Hz), 3.66 (2H, d,  $J = 2.8$  Hz), 3.55 (2H, d,  $J = 2.8$  Hz), 3.13 (3H, s); <sup>13</sup>C NMR (DMSO, 125 MHz)  $\delta$ : 172.8 (C-1), 65.4 (C-2), 65.1 (C-3), 65.7 (C-4), 68.2 (C-5), 65.9 (C-6), 53.1 (C-7)。从以上数据可推导出化合物 1 为一甘油酯类化合物。与相关文献<sup>[7,8]</sup>对比可得化合物 1 为 3-甲基-1-十六烯酸乙酯甘油酯。

**化合物 2** 无色脂状,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。<sup>1</sup>H NMR (DMSO, 500 MHz)  $\delta$ : 5.41 (1H, s), 4.01 (2H, d,  $J = 3.2$  Hz), 3.75 (2H, d,  $J = 3.2$  Hz), 3.68 (2H, d,  $J = 2.8$  Hz), 3.59 (2H, d,  $J = 2.8$  Hz), 3.21 (3H, s); <sup>13</sup>C NMR (DMSO, 125 MHz)  $\delta$ : 174.6 (C-1), 65.9 (C-2), 65.7 (C-3), 65.4 (C-4), 68.2 (C-5), 65.1 (C-6), 55.2 (C-7)。从以上数据可推导出化合物 2 为一甘油酯类化合物。与相关文献<sup>[7,8]</sup>对比可得化合物 2 为 3-甲基-1-十八烯酸乙酯甘油酯。

**化合物 3** 无定形粉末,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。<sup>1</sup>H NMR (DMSO, 500 MHz)  $\delta$ : 6.42 (1H, dd,  $J = 11.5, 4.0$  Hz), 5.94 (1H, t,  $J = 13.2$  Hz), 5.62 (1H, dd,  $J = 7.5, 6.0$  Hz), 5.34 (1H, q,  $J = 8.0$  Hz), 3.97 (2H, m); <sup>13</sup>C NMR (DMSO, 125 MHz)  $\delta$ : 174.8 (C-1), 70.8 (C-2), 138.1 (C-3), 128.5 (C-4), 34.1 (C-5), 123.9 (C-6), 130.8 (C-7)。从以上数据可分析并与相关文献<sup>[8,9]</sup>对比可得化合物 3 为 3-十七烷酸-环己-1,4-二烯酯。

**化合物 4** 无定形粉末,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。<sup>1</sup>H NMR (DMSO, 500 MHz)  $\delta$ : 5.32 (4H, m), 3.61 (1H, m), 3.44 (2H, q,  $J =$

8.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (DMSO, 125 MHz)  $\delta$ : 172.9 (C-1), 65.2 (C-2), 33.4 (C-3), 129.7 (C-4), 127.8 (C-5), 34.1 (C-6), 127.7 (C-7), 129.6 (C-8)。从以上数据可分析并与相关文献<sup>[8,9]</sup>对比可得化合物 4 为 1,4-环己二烯-3-十五烷酸甲酯。

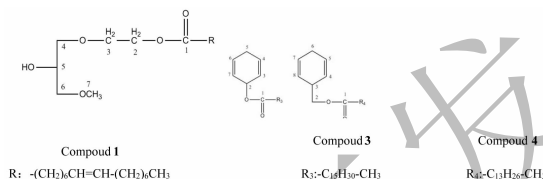


图 1 化合物 1~4 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-4

## 4 结论

乳腺增生的发病多是因为雌激素、孕激素和催乳素比例失调,其中,高催乳素是乳腺增生发病的重要原因。根据传统医学和文献<sup>[2]</sup>可知,大麦芽醇提物具有抑制 PRL 分泌的作用是确定的,本研究通过对小鼠血清 PRL 含量的测定,显示造模后小鼠体内血清 PRL 含量明显高于正常组大鼠。同时,与模型组比较,乙酸乙酯组小鼠的血清 PRL 水平明显降低,石油醚组、正丁醇组和萃余物组均无显著变化,说明大麦芽乙酸乙酯萃取物具有明显的抑制 PRL 分泌的作用。

乙酸乙酯萃取物经 MCI 柱、ODS 柱和 ODS-A 柱分离得到的四个主要化合物,经核磁鉴定分别为 3-甲基-1-十六烯酸乙酯甘油酯、3-甲基-1-十八烯酸乙酯甘油酯、3-十七烷酸-环己-1,4-二烯酯、1,4-环己二烯-3-十五烷酸甲酯。这四个化合物中前二个为甘油酯类化合物,后二个为环己二烯类化合物,均是首次从大麦芽具有抑制 PRL 分泌的活性部位中分离出来的,目前也无文献报道这些化合物关于抑制 PRL 分泌的活性。

在我们前期预备实验中通过 TLC 比较,发现这些成分在大麦中并未见到,我们推测可能是大麦在发芽过程中产生的活性成分,但至于甘油酯类化合物和环己二烯类化合物哪一个单体或哪一类化合物是抑制 PRL 分泌的有效成分,还需要我们进一步研究。

### 参考文献

- 1 Wang B(王波). Main components of barley malt and its application in food industry[J]. *Terop*(麦类作物学报), 2017, 37:1224-1231.