

文章编号:1001-6880(2018)6-0978-05

# 南瓜籽抗前列腺增生化学成分研究

李千会,徐德平\*

江南大学食品学院,无锡 214122

**摘要:**本文研究了南瓜籽抗前列腺增生活性及功效成分。南瓜籽乙醇回流提取,经石油醚萃取,硅胶柱、ODS 反向柱层析柱分离,用核磁共振方法鉴定结构。结果表明:南瓜籽醇提石油醚萃取相经硅胶柱层析氯仿:甲醇(8:2,7:3)梯度洗脱物对小鼠前列腺增生活性的抑制效果最明显,再经 ODS 柱分离,得到了三个单体化合物,分别为 3-甲酸-1,4-环己二烯-2-十一烷酸甲酯(1),3-甲酸-1,4-环己二烯-2-十一烯酸甲酯(2),2-十一烯酸甲酯-3-十一烷酸-环己-1,4-二烯酯(3)。化合物 1~3 为首次从南瓜籽中分离得到的酯类物质。

**关键词:**南瓜籽;抗前列腺增生;分离;鉴定

中图分类号:R284.2;Q946

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.6.011

## Chemical Constituents of Pumpkin Seeds against Benign Prostatic Hyperplasia

LI Qian-hui, XU De-ping\*

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

**Abstract:** This study was aimed to investigate whether the ethanol extract of petroleum ether phase from Pumpkin Seeds had impacts on the prostatic hyperplasia in mice. The results showed that 80% and 90% ethanol extract of petroleum ether phase from Pumpkin Seeds was the most sensitive part on the prostatic hyperplasia activity inhibition. Then three pure 1,4-cyclohexenyl ester monomer compounds were further separated from this part by ODS column: 3-carboxylic acid-1,4-cyclohexadiene-2-undecanoate, 3-carboxylic acid-1,4-cyclohexadiene-2-undecylenic acid methyl ester, Methyl 2-undecenoate-3-undecanoate-cyclohexyl-1,4-dienyl ester. These three compounds are anti-prostate active site separation, identification of esters from Pumpkin Seeds. Whether they have anti-prostatic hyperplasia active ingredients, but also need further study.

**Key words:**pumpkin seeds;anti-prostatic hyperplasia;isolation;structural identification

南瓜子(*Semen Cucurbitae*)又称南瓜仁、金瓜籽,为葫芦科植物南瓜 *Cucurbita moschata* (Duch.) Poiret 的成熟种子。吴晓磊等研究显示<sup>[1]</sup>:南瓜籽中含有丰富的必需脂肪酸、氨基酸、植物甾醇、胡萝卜素、矿物质、维生素以及多糖等。黄黎慧等研究表明<sup>[2]</sup>:南瓜籽具有降低人体血清胆固醇和甘油三酯、防治男性前列腺疾病、降低血糖、防止糖尿病、促进新陈代谢等作用。体外和体内研究证实<sup>[3-6]</sup>:南瓜籽油对轻、中度前列腺疾病有明显的预防和治疗作用。南瓜籽油作为保健和食用油已在澳大利亚、匈牙利、斯洛文尼亚等国家生产和销售,并在西非和中东等地区的一些国家作为烹饪用油使用,而这些国家前列腺发病率很低<sup>[7]</sup>。我国已有前列腺肥大患者食用南瓜籽后好转的病例报道,但对南瓜籽的研

究仍停留在提取和分析阶段,其抗前列腺增生的保健功效成分未被大家所认识。基于此,本文研究了南瓜籽在抗前列腺增生方面的作用,旨在明确其功效化学成分,为南瓜籽的进一步开发利用,提供理论依据。

## 1 实验材料

### 1.1 材料与试剂

南瓜籽:购于无锡市粮油农贸市场(产地云南);分析纯有机试剂无水乙醇、浓硫酸、茴香醛、冰醋酸、正丁醇、甲醇(色谱纯):国药集团化学试剂有限公司;雄性昆明小白鼠:上海斯莱克实验动物有限公司;丙酸睾酮注射液(25 mg/mL):上海通用药业股份有限公司;前列腺酸性磷酸酶(PAP)试剂盒:上海江莱生物科技有限公司;柱层析硅胶 100 目,青岛海洋化工公司;GF<sub>254</sub> 硅胶板:山东烟台芝罘化工厂;ODS-P 填料(Nacalai Tosoh Inc.)。

## 1.2 实验仪器

RAT-100 型萃取罐(无锡申科仪器有限公司);R-1002 型旋转蒸发器(上海申顺生物科技有限公司);HH-4 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器厂);SYB106-100 型恒流泵(天津市科器高新技术公司),SHZ-95 型循环水式多用真空泵:上海丞明仪器设备有限公司;MULTISKAN MK 3 酶标仪(美国 Thermo 公司)。AB 204-N 精密电子天平:Mettler-Toledo Group。核磁共振仪(Avance 500 MHz, Bruker 公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 南瓜籽醇提物及石油醚萃取物的制备

称取南瓜籽 10 kg,粉碎后过 20 目筛,置于 100 L 萃取罐,按料液比 1:10(g/mL)加入 95% 的乙醇,于 60 °C 条件下搅拌提取 3 h,过滤,取滤液,滤渣按上述方法重复提取两次,合并滤液,减压浓缩至适宜体积,得南瓜籽乙醇提取物,低温保存备用。取南瓜籽乙醇提取物于 1000 mL 分液漏斗中,按 1:1 比例加入石油醚,震荡混匀静置,反复萃取 3 次,分别减压浓缩至油膏状物,得石油醚萃取物(PI)及萃余物(PII),低温保存备用。往南瓜籽醇提后滤渣中加入去离子水,于 60 °C 条件下搅拌 3 h,重复提取两次,过滤,取滤液,低压浓缩至膏状物,得南瓜籽水提物(PIII)。

### 2.2 南瓜籽不同提取物抗 BPH 活性研究

#### 2.2.1 雄激素诱导 BPH 小鼠模型的建立

4 周龄雄性 KM 小鼠,适应性饲养 1 周后,随机分成 5 组,每组 10 只。第二周开始至实验结束,模型组和实验组每日皮下注射丙酸睾酮,剂量为 5 mg/kg/d,正常对照组小鼠每日皮下注射相应剂量橄榄油。第四周开始,在同一天的不同时间段实验组灌胃,实验组分别按 0.1 mL/10 g 的剂量灌胃南瓜籽醇提石油醚萃取物,南瓜籽石油醚萃余物及南瓜籽水提物,空白组和模型组按 0.1 mL/10 g 的剂量灌胃生理盐水。连续灌胃 30 天。

#### 2.2.2 样本制备和生化指标测定

末次给药 24 小时后,将小鼠引颈处死,摘取前列腺组织,在生理盐水中洗去组织上的残血,然后用滤纸吸干,用精度为 0.0001 的精密分析天平称质量,计算器脏指数。取部分小鼠前列腺组织,按常规方法制备 10% 的小鼠前列腺组织匀浆液,用冷冻离心机离心后取上清液,用 PAP 试剂盒测定小鼠前列

腺组织匀浆中的 PAP 的含量,操作步骤严格按照其说明书进行。

### 2.3 南瓜籽醇提石油醚萃取物(PI)的分离

取南瓜籽醇提石油醚萃取物上硅胶柱(5 × 150 cm),分别用氯仿:甲醇体积分数比为 9:1、8:2、7:3 和纯甲醇溶液进行洗脱,自动收集器 15 mL/瓶收集洗脱液,得氯仿:甲醇 9:1(A)、8:2(B)、7:3(C)、和纯甲醇溶液(D)洗脱物四个部分,分别减压浓缩,低温保存备用。

#### 2.3.1 南瓜籽醇提石油醚萃取物分离得到的 A、B、C、D 的抗 BPH 活性

按 2.2 方法操作,分别检测 A、B、C、D 四个乙醇洗脱组分的抗 BPH 活性,其中实验组分别按 1 g/kg/d 的剂量灌胃 A、B、C、D。

#### 2.3.2 具有抗 BPH 活性组分的分离

将具有抗 BPH 活性的 B、C 两部分分别上 ODS-P(3 × 100 cm)色谱柱,用乙醇溶剂梯度洗脱,流量 10 mL/min,自动收集器 15 mL/瓶收集洗脱液,TLC 薄层法跟踪检测洗脱液,将 Rf 值和显色反应一致的洗脱液合并减压浓缩,反复上 ODS-P(3 × 100 cm)色谱柱,直至得 3 个纯化合物, I、II、III。

#### 2.3.3 1~3 3 个化合物结构鉴定

得到的化合物 1、2 和 3 用氘代氯仿溶解,四甲基硅烷(TMS)为内标物,经<sup>1</sup>H NMR,<sup>13</sup>C NMR 和<sup>135</sup>DEPT-NMR 等方法鉴定其化学结构。

## 3 结果与讨论

### 3.1 南瓜籽不同提取物抗 BPH 活性研究结果

各组小鼠前列腺湿重、前列腺指数和组织匀浆中 PAP 的测定结果见表 1。

由表 1 可知,M 组小鼠较 K 组前列腺湿重及其指数显著增加( $P < 0.01$ ),且组织匀浆中 PAP 活力显著提升( $P < 0.01$ ),即模型建立成功。

各给药组中,PI 组小鼠较 M 组前列腺湿重及其指数显著减少( $P < 0.01$ ),组织匀浆中 PAP 活力明显下降( $P < 0.05$ ),说明 PI 组中含有具有抗 BPH 活性。PII 组、PIII 组小鼠的前列腺湿重及其指数与 M 组相比均无明显改善,说明不含抗 BPH 活性成分。

### 3.2 南瓜籽醇提石油醚萃取物分离得到的 A、B、C、D 的抗 BPH 活性研究结果

各组小鼠前列腺湿重、前列腺指数和组织匀浆中 PAP 的测定结果见表 2。

表 1 PI、PII、PIII 对 BPH 模型小鼠脏器湿重和脏器指数的影响( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )Table 1 Effects of PI, PII, PIII on the wet weight and organ coefficient index of mice with BPH ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	前列腺湿重 Prostate wet weight (mg)	前列腺指数 Prostate index (mg/g)	组织匀浆 PAP Tissue homogenate PAP (ng/mL)
空白对照 Control	61.34 ± 15.58 *	1.31 ± 0.39 *	0.61 ± 0.37 *
BPH 模型组 BPH model	80.89 ± 14.84	1.68 ± 0.37	1.35 ± 0.50
PI 组 PI group	61.33 ± 10.74 *	1.42 ± 0.23 *	0.82 ± 0.53 **
PII 组 PII group	83.65 ± 19.44	2.01 ± 0.49	1.21 ± 0.54
PIII 组 PIII group	73.88 ± 11.43	1.62 ± 0.26	1.19 ± 0.63

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

Note: Compare with model, \*  $P < 0.01$ ; \*\*  $P < 0.05$ .

表 2 A、B、C、D 对 BPH 模型小鼠脏器湿重和脏器指数的影响( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )Table 2 Effects of A, B, C, D on the wet weight and organ coefficient index of mice with BPH ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	前列腺湿重 Prostate wet weight (mg)	前列腺指数 Prostate index (mg/g)	组织匀浆 PAP Tissue homogenate PAP (pg/mL)
空白对照 Control	54.05 ± 5.92 *	1.20 ± 0.22 *	234.06 ± 19.97 *
BPH 模型组 BPH model	69.74 ± 10.37	1.58 ± 0.29	250.95 ± 21.03
A 组 A group	69.32 ± 9.71	1.50 ± 0.25	245.18 ± 14.77
B 组 B group	56.61 ± 6.74 *	1.26 ± 0.24 *	240.11 ± 15.88 **
C 组 C group	57.12 ± 6.56 *	1.32 ± 0.33 **	246.9 ± 18.98
D 组 D group	65.37 ± 8.04	1.55 ± 0.18	246.85 ± 15.09

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 2 可知, M 组小鼠较 K 组前列腺湿重前列腺指数显著增加,且组织匀浆中 PAP 活力显著提升( $P < 0.01$ ),即模型建立成功。

各给药组中,B 组小鼠较 M 组前列腺湿重及其指数显著减少( $P < 0.01$ ),组织匀浆中 PAP 活力明显下降( $P < 0.05$ ),说明 B 组中含有具有抗 BPH 活性。C 组前列腺湿重较 M 组显著降低( $P < 0.01$ ),前列腺指数明显下降( $P < 0.05$ ),说明 C 组中可能含有抗 BPH 活性成分。其余给药组小鼠的前列腺湿重及其指数与 M 组相比均无明显改善,说明不含抗 BPH 活性成分。

### 3.3 化合物 1、2、3 的结构分析

化合物 1 淡绿色油状,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。

HR EI-MS 给出分子质量为 322.3303,计算分子式为  $C_{19}H_{30}O_4$ ,<sup>13</sup>C 核磁共振数据见表 3。

从<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) 可见  $\delta$ : 5.26 (3H, d, *J* = 3.6), 5.18 (2H, d, *J* = 3.6), 4.22 (2H, d, *J* = 7.6), 2.23 (2H, t), 1.95 (2H, dq), 1.52 (2H, q), 1.20 (3H, d, *J* = 3.6), 0.8 (3H,

m),从峰形上可见该化合物含有 3 个双键氢、4 个连氧氢、3 个甲基氢信号,出现在较低场区的信号 82.23 ~ 1.20 是脂肪链上的-CH<sub>2</sub>-氢信号。

从<sup>13</sup>C NMR 可见化合物共有 19 个碳信号,其中 δ171.7, δ171.6 为二个羧基碳信号,表明化合物含有二个羧基,δ128.6, δ128.5, δ128.4, δ127.5, 有四个碳信号,应为二个双键上碳信号,δ68.3, δ61.7 为二个连氧碳信号,δ13-32 为 11 个碳信号。

从<sup>135</sup>DEPT 可见有三个双键信号,δ68.3 为-CH-碳信号,δ61.7 为-CH<sub>2</sub>-碳信号,δ22-32.8 为 10 个-CH<sub>2</sub>-碳信号,δ13.1 为甲基碳信号。可以得出化合物含有一个脂肪酸链。

在 HMBC 中可见 δC171.7 的羧基与 δH4.22 (δC61.7) 的氢有相关,δC127 的双键碳与 δH4.22 也相关。δC171.6 的羧基与 δH5.18 (δC68.3) 的氢有相关,δC128 的双键碳与 δH5.18 也相关。δC128 的双键碳与 δH1.95 有相关。以上数据与文献对照<sup>[8,9]</sup>,数据基本一致,依此判定该化合物 1 为 3-甲酸-1,4-环己二烯-2-十一烷酸甲酯,该化合物在南瓜籽中首次发现。

**化合物 2** 淡绿色油状,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。

该化合物与**1**类似,只是在双键区多了两个双键碳,因此推断其为化合物**1**的类似物,只是双键可能在脂肪酸上。

从<sup>13</sup>C NMR 图谱中可见化合物共有 19 个碳信号,其中 8171.7,171.6 为二个羰基碳信号,表明化合物含有二个羧基,8130.20,129.99,129.96,129.69,128.08,127.89 有六个碳信号,应为六个双键碳信号,868.3,61.7 为二个连氧碳信号,813~34 为 11 个碳信号。以上数据与文献对照<sup>[8,9]</sup>,数据基本一致,依此判定该化合物**1**得出化合物**2**为 3-甲

### 酸-1,4-环己二烯-2-十一烯酸甲酯

**化合物 3** 淡绿色油状,易溶于氯仿、乙酸乙酯,可溶于甲醇、乙醇。

从<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz) 谱、<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz) 谱中可见,化合物**3**与化合物**2**的结构类似,<sup>13</sup>C NMR 中低场区还有 8130.03,129.85,129.82,129.80,127.96,127.64 有六个碳信号,不同之处在于在高场区有 22 个碳信号。以上数据与文献对照<sup>[8,9]</sup>,数据基本一致,对比化合物**1**、**2**的结构推测该化合物为 2-十一烯酸甲酯-3-十一烷酸-环己-1,4-二烯酯。

表 3 化合物**1**、**2**、**3** 的<sup>13</sup>C 核磁共振数据

Table 3 <sup>13</sup>C NMR Spectroscopic Data of Compound **1**

		1	2	3
Position		δC	δC	δC
	C = O	171.7	C = O	173.2
	C = O	171.6	C = O	172.7
1	C = C	128.6	C = C	129.9
2	C = C	128.5	C = C	129.7
3	C = C	128.4	C = C	128.1
4	C = C	127.5	C = C	127.9
5	C - O	68.3	C - O	68.8
6	C - O	61.7	C - O	62
7	-CH <sub>2</sub> -	30.7	-CH <sub>2</sub> -	31.7
R1				
1	-CH <sub>2</sub> -	32.8	C = C	130.2
2	-CH <sub>2</sub> -	30.4	C = C	130
3	-CH <sub>2</sub> -	28.5	-CH <sub>2</sub> -	34
4	-CH <sub>2</sub> -	28.4	-CH <sub>2</sub> -	33.9
5	-CH <sub>2</sub> -	28.3	-CH <sub>2</sub> -	29.5
6	-CH <sub>2</sub> -	27.9	-CH <sub>2</sub> -	29.3
7	-CH <sub>2</sub> -	26.1	-CH <sub>2</sub> -	29.1
8	-CH <sub>2</sub> -	23.8	-CH <sub>2</sub> -	23.9
9	-CH <sub>2</sub> -	21.6	-CH <sub>2</sub> -	21.6
10	-CH <sub>2</sub> -	13.1	0	13.5
R2				
1			-CH <sub>2</sub> -	32.4
2			-CH <sub>2</sub> -	32
3			-CH <sub>2</sub> -	29.5
4			-CH <sub>2</sub> -	29.1
5			-CH <sub>2</sub> -	29
6			-CH <sub>2</sub> -	27.3
7			-CH <sub>2</sub> -	27.2
8			-CH <sub>2</sub> -	25.6
9			-CH <sub>2</sub> -	22.6
10			0	14.1

通过以上测定分析三种化合物的结构如图 1 所示:

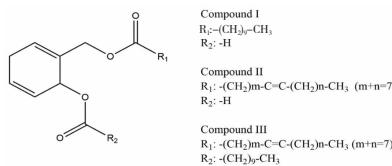


图 1 化合物 1~3 的结构式

Fig. 1 The structure of compound 1~3

## 4 结论

南瓜籽醇提石油醚萃取相经硅胶柱层析氯仿:甲醇(8:2、7:3)梯度洗脱物对前列腺增生的抑制作用显著,用ODS-P分离得到1~3三个化合物,经NMR鉴定分别为:3-甲酸-1,4-环己二烯-2-十一烷酸甲酯(1),3-甲酸-1,4-环己二烯-2-十一烯酸甲酯(2),2-十一烯酸甲酯-3-十一烷酸-环己-1,4-二烯酯(3)。这三种化合物是首次从南瓜籽具有抗前列腺活性部位中分离、鉴别的酯类物质,它们是否是南瓜籽中具有抗前列腺增生活性的有效成分,还需要进一步研究。

## 参考文献

1 Wu XL(吴晓磊),Pan Q(潘勤). Chemical composition and pharmacological effects of pumpkin seed oil [J]. *Mod Med Cli*(现代药物与临床),2009,24:336-338.

(上接第 977 页)

- 9 Yang XQ,Peng TF,Yang YB,et al. Antimicrobial and antioxidant activity of a new benzamide from endophytic *Streptomyces* sp. YIM67086 [J]. *Nat Prod Res*,2015,29:331-335.
- 10 Liu YH,Yue CW,Shao MY,et al. Molecular genetic characterization of an anthrabenzoquinones gene cluster in *Streptomyces* sp. FJS31-2 for the Biosynthesis of BE-24566B and Zunyimycin A [J]. *Molecules*,2016,21:711-719.
- 11 Liu YH,Shao MH,Wang YY,et al. Zunyimycins B and C, New Chloranthrabenzoquinones antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococci* from *Streptomyces* sp. FJS31-2 [J]. *Molecules*,2017,22:251-259.

- 2 Huang LH(黄黎慧),Huang Q(黄群),Yu MJ(于美娟). Pumpkin nutrition and health value and product development [J]. *Mod Food Sci Tec*(现代食品科技),2005:176-179.
- 3 Zong YL(宗玉丽),Li X(李鑫),Fu YM(付英梅),et al. Research and application of pumpkin seed active components [J]. *J Microbio*(微生物学杂志),2011,31:109-112.
- 4 Wang P(王萍),Zhao QY(赵清岩). Changes of the main nutritional components in seed Pumpkin seeds during maturation [J]. *Acta Hortic Sin*(园艺学报),2001,28(1):47-51.
- 5 Tsai YS,Tong YC,Cheng JT,et al. Pumpkin seed oil and phytosterol-F can block testosterone/prazosin-induced prostate growth in rats [J]. *UrolInt*,2006,77:269-274.
- 6 Gossell-Williams M,Davis A,O' Connor N. Inhibition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of sprague-dawley rats by pumpkin seed oil [J]. *J Med Food*,2006,9:284-286.
- 7 Zhou SY(周琛媛),Dong LQ(董柳青),Zhao B(赵波),et al. Isolation and identification of active compounds from *Camellia oleifera* inhibiting the proliferation of prostatic hyperplasia [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2017,29:553-558.
- 8 Torres P T,Grande C,A naya J,et al Secondary metabolites from *Senecio minutus* and *Senecio boissieri*: A new jacaranone derivative [J]. *Fitoterapia*,2000,71:9.
- 9 Liu YH(刘永衡),Zhang ZP(张自萍),Wang YL(王永利). Chemical Constituents of Trinidad and Tobago in Europe [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药),2010,41:1608-1612.
- 12 Qian SY(钱声艳),Li YZ(李宇真),Shao MY(邵美云),et al. Isolation and structural identification of pseurotin A from *Streptomyces* sp. CSDX076 secondary metabolite [J]. *China brewing*(中国酿造),2016,35:112-115.
- 13 Yue CW(岳昌武),Li YY(李园园),Huang B(黄兵),et al. Isolation of antimicrobial *Streptomyces* sp. from Chishui Danxia soil and fermentation product analysis of actinomycin producing *Streptomyces* sp. CSDX001 [J]. *China brewing*(中国酿造),2016,33:41-46.
- 14 Wei GZ,Zhu N,Zeng Y,et al. Chemical constituents from endophytic *Streptomyces* sp. W5 isolated from *Trewia nudiflora* L. [J]. *Ann Microbio*,2010,60:249-253.