

车前子化学成分研究(Ⅱ)

曾金祥¹, 许兵兵¹, 毕莹², 王娟¹, 任刚^{1*}, 王洪玲¹, 张丽³, 邹红³

(1. 江西中医药大学 中药资源与民族药研究中心, 南昌 330004;
2. 南昌市第三医院, 南昌 330009; 3. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 目的:研究车前子(Plantaginis Semen)的化学成分。方法:利用大孔树脂 HP-20,正/反相硅胶柱色谱,Sephadex LH-20 凝胶和高压制备色谱技术等分离纯化化合物,根据化合物理化性质和波谱数据鉴定化合物结构。结果:从车前子中分离得到 9 个化合物,分别鉴定为 cyclo-(S-Pro-R-Phe,**1**),(+)-去氢催吐萝芙木醇[(+)-dehydrovomifoliol,**2**],blumenol A(**3**),吲哚-3-甲醛(1H-indole-3-carbaldehyde,**4**),胡萝卜苷(daucosterol,**5**), α -亚油酸(α -linoleic acid,**6**), α -亚麻酸(α -linolenic acid,**7**), γ -亚麻酸(γ -linolenic acid,**8**),油酸(oleic acid,**9**)。结论:化合物**1,2,4,8**为首次从车前科植物中分离得到。

[关键词] 车前子; 化学成分; cyclo-(S-Pro-R-Phe); (+)-去氢催吐萝芙木醇; 吲哚-3-甲醛; γ -亚麻酸
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)04-0081-04
[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017040081
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161130.0913.016.html>
[网络出版时间] 2016-11-30 9:13

Chemical Constitutes from Plantaginis Semen (Ⅱ)

ZENG Jin-xiang¹, XU Bing-bing¹, BI Ying², WANG Juan¹, REN Gang^{1*},
WANG Hong-ling¹, ZHANG Li³, ZOU Hong³

(1. *Research Center of Natural Resources of Chinese Medicinal Materials and Ethnic Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China*; 2. *The Third Hospital of Nanchang, Nanchang 330009, China*; 3. *Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China*)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of Plantaginis Semen. **Method:** The constituents were isolated and purified by macroporous resin HP-20, column chromatography over silica gel, RP-8 silica gel, Sephadex LH-20 and by preparative HPLC. Their structures were elucidated by analysis of physical and chemical properties and spectral data. **Result:** Nine compounds were isolated from Plantaginis Semen and their structures were identified as cyclo-(S-Pro-R-Phe) (**1**), (+)-dehydrovomifoliol (**2**), blumenol A (**3**), 1H-indole-3-carbaldehyde (**4**), daucosterol (**5**), α -linoleic acid (**6**), α -linolenic acid (**7**), γ -linolenic acid (**8**), oleic acid (**9**). **Conclusion:** Compounds **1, 2, 4, 8** were isolated from Plantaginaceae for the first time.
[Key words] Plantaginis Semen; chemical constituents; cyclo-(S-Pro-R-Phe); (+)-dehydrovomifoliol; 1H-indole-3-carbaldehyde; γ -linolenic acid

车前子为车前科植物车前或平车前的干燥成熟种子^[1]。车前科植物分布于世界各地,共 3 属 275 种,其中我国有 22 种^[2],车前子作为药物首载于《神农本草经》^[3],具有清热利尿、渗湿通淋、明目祛痰的功效;用于热淋涩痛,水肿胀满,暑湿泄泻,目赤胀痛,痰热咳嗽等。目前从车前子分离出多种类型

[收稿日期] 20160225(016)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260630);江西省卫生厅项目(2015B047)
[第一作者] 曾金祥,博士,副教授,从事中药资源与中药生物传感研究,Tel:0791-87119065,E-mail:zjinxiang@163.com
[通讯作者] *任刚,博士,教授,从事中药药效物质基础研究,Tel:0791-87119065,E-mail:firmblue@163.com

化学成分,包括苯乙醇苷类、黄酮类、环烯醚萜类、生物碱类等^[4],现代药理活性研究表明车前子具有抗氧化^[5]、免疫调节^[6]、抗炎^[7]、利尿^[8]、降尿酸^[9]等活性。本课题组前期研究表明,车前子乙醇提取物具有较好的降尿酸作用,但其药效物质基础仍有待进一步研究^[10-11]。为进一步阐明车前子降尿酸药效物质基础,本实验对车前子醇提物化学成分进行了研究,利用相关分离材料与技术手段,从中分离得到 9 个化合物,分别为 cyclo-(*S*-Pro-*R*-Phe) (**1**), (+)-去氢催吐萝芙木醇(**2**),blumenol A(**3**),吡啶-3-甲醛(**4**),胡萝卜苷(**5**), α -亚油酸(**6**), α -亚麻酸(**7**), γ -亚麻酸(**8**),油酸(**9**),其中化合物 cyclo-(*S*-Pro-*R*-Phe), (+)-去氢催吐萝芙木醇,吡啶-3-甲醛, γ -亚麻酸为首次从车前科植物中分离得到。

1 材料

AX-600 型核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司,TMS 为内标),X-5 型显微熔点测定仪(北京光电设备厂,温度未矫正),HP-20 型大孔树脂(日本三菱化学公司),LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20,瑞士 Pharmacia 公司产品),205DU 型 1/10 万电子天平(Mettler Toledo),硅胶柱色谱(青岛海洋化工厂,200~300 目),薄层 HSGF₂₅₄硅胶板(青岛海洋化工厂),LC3000 型高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司),YMC-Pack ODS 半制备柱(20 mm×250 mm, 5 μ m),色谱甲醇、乙腈(西陇化工股份有限公司),其余所用试剂均为分析纯,其中石油醚沸点为 60~90 $^{\circ}$ C。

车前子于 2013 年 6 月采集于江西吉安,由江西中医药大学中药资源与民族药研究中心张寿文教授鉴定为车前科植物车前 *Plantago asiatica* 的种子。

2 提取分离

干燥车前子 100 kg 粉碎,室温下用 3 倍量石油醚回流提取 3 次,每次 2 h,过滤,得滤渣。滤渣分别用 65% 乙醇,95% 乙醇渗漉提取,合并渗漉液,回收溶剂,得总提取物 10 kg。总提取物部位经 HP-20 大孔树脂柱色谱(水,10% 乙醇,20% 乙醇,30% 乙醇,40% 乙醇,50% 乙醇,60% 乙醇,70% 乙醇,80% 乙醇,90% 乙醇)洗脱,合并得到组分(H0~H9)。

H1 组分经硅胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇,9:1,8:2,7:3,6:4)洗脱得组分 H1S1~H1S4。组分 H1S1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇)洗脱得组分 H1S1L1~H1S1L8,H1S1L6 经 ODS 高压制备液相(30% 甲醇,60 min;纯甲醇)洗脱得到化合物 **1** (3.5 mg),化合物 **2** (4.5 mg),化合物 **3** (19 mg)。

H3 组分经硅胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇,100:1,50:1,10:1,5:1,3:1,1:1,1:3,甲醇)洗脱得组分 H3S1~H3S8。组分 H3S3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇,19:1)洗脱得 H3S3L1~H3S8L6,H3S3L6 经 ODS 高压制备液相(30% 甲醇)得化合物 **4** (3.1 mg)。

H9 组分经硅胶柱色谱(三氯甲烷,三氯甲烷-甲醇,19:1,9:1,4:1,1:1)洗脱得组分 H9S0~H9S5。组分 H9S2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇,1:1)洗脱得组分 H9S2L0~H9S2L3,其中组分 H9S2L2 经纯化得到化合物 **5** (42.3 mg)。组分 H9S2L3 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮,20:1)洗脱得组分 H9S2L3S1~H9S2L3S3,各组分经 ODS 高压制备液相(80% 乙腈)得到化合物 **6** (11 mg),化合物 **7** (3.0 mg),化合物 **8** (9.7 mg),化合物 **9** (6.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** C₁₄H₁₆N₂O₂,ESI-MS m/z 245 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz,CDCl₃) δ :7.34 (2H,t, J =7.5 Hz,H-3',H-5'),7.28 (1H,t, J =7.3 Hz,H-4'),7.26 (1H,s,H-6'),7.22 (1H,d, J =7.3 Hz,H-2'),5.68 (1H,s,N-H),4.26 (1H,dd, J =3.4,10.8 Hz,H-9),4.06 (1H,t, J =7.5 Hz,H-6),3.64 (1H,m,H-10),3.55~3.70 (2H,m,H-3),2.76 (1H,dd, J =10.7,14.4 Hz,H-10),2.32 (1H,m,H-5),2.01 (1H,m,H-5),1.96 (1H,m,H-4),1.88 (1H,m,H-4);¹³C-NMR (150 MHz,CDCl₃) δ :169.4 (C-1),45.5 (C-3),22.5 (C-4),28.3 (C-5),59.1 (C-6),165.1 (C-7),56.2 (C-9),36.8 (C-10),135.9 (C-1'),129.3 (C-2'),129.2 (C-3'),127.6 (C-4'),129.1 (C-5'),129.5 (C-6')。以上数据与文献[12]报道 cyclo-(*S*-Pro-*R*-Phe) 数据一致,故确定化合物 **1** 为 cyclo-(*S*-Pro-*R*-Phe)。

化合物 **2** 无色胶状物,C₁₃H₁₈O₃,ESI-MS m/z 223 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz,CD₃OD) δ :7.00 (1H,d, J =15.8 Hz,H-7),6.44 (1H,d, J =15.8 Hz,H-8),5.93 (1H,t, J =1.1 Hz,H-4),4.58 (1H,s,H-6),2.58 (1H,d, J =17.1 Hz,H-2 α),2.26 (1H,d, J =17.1 Hz,H-2 β),2.30 (3H,s,H-10),1.89 (3H,d, J =1.4 Hz,H-13),1.06 (3H,s,H-12),1.01 (3H,s,H-11);¹³C-NMR (150 MHz,CD₃OD) δ :42.7 (C-1),50.5 (C-2),200.4 (C-3),128.0 (C-4),164.7 (C-5),78.0 (C-6),148.3 (C-7),131.7 (C-8),200.7 (C-9),27.6 (C-10),24.7 (C-11),23.5 (C-12),19.2 (C-13)。以上数据与文献[13]报道 (+)-

dehydrovomifoliol 数据一致,故确定化合物 **2** 为 (+)-去氢催吐罗芙木醇[(+)-dehydrovomifoliol]。

化合物 **3** 无色胶状物, $C_{13}H_{20}O_3$, ESI-MS m/z 247 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.89 (1H, s, H-4), 5.83 (1H, m, H-8), 5.76 (1H, dd, $J = 0.8, 17.7$ Hz, H-7), 4.38 (1H, m, H-9), 2.42 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2 α), 2.21 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2 β), 1.88 (3H, d, $J = 1.3$ Hz, H-13), 1.28 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-10), 1.07 (3H, s, H-12), 1.00 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 41.1 (C-1), 49.6 (C-2), 198.1 (C-3), 126.8 (C-4), 162.9 (C-5), 79.0 (C-6), 135.7 (C-7), 128.9 (C-8), 68.0 (C-9), 23.7 (C-10), 22.9 (C-11), 24.0 (C-12), 18.9 (C-13)。以上数据与文献[14]报道 blumenol A 数据一致。故确定化合物 **3** 为 blumenol A。

化合物 **4** 浅黄色粉末, C_9H_7NO , ESI-MS m/z 144.08 $[M - H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 12.14 (1H, s, H-1), 9.93 (1H, s, H-10), 8.28 (1H, s, H-2), 8.09 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-4), 7.50 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.23 (2H, m, H-5, H-6); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 138.5 (C-2), 118.2 (C-3), 123.5 (C-4), 122.1 (C-5), 120.9 (C-6), 112.4 (C-7), 137.1 (C-8), 124.1 (C-9), 185.0 (C-10)。以上数据与文献[15]报道 1H-indole-3-carbaldehyde 数据一致,故鉴定化合物 **4** 为吲哚-3-甲醛(1H-indole-3-carbaldehyde)。

化合物 **5** 白色晶体, $C_{35}H_{60}O_6$, ESI-MS m/z 575 $[M - H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 5.33 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-6), 5.02 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.53 (1H, dd, $J = 2.2, 11.8$ Hz, H-6'), 4.37 (1H, dd, $J = 2.1, 11.8$ Hz, H-6'), 4.23 ~ 4.39 (2H, H-3', H-4'), 4.04 (1H, t, $J = 8.3$ Hz, H-2'), 3.93 ~ 3.98 (2H, m, H-3, H-5'), 0.97 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.92 (3H, s, H-19), 0.80 ~ 0.89 (8H, m, H-9, H-14, H-26, H-27), 0.65 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 37.5 (C-1), 28.6 (C-2), 78.6 (C-3), 40.0 (C-4), 141.0 (C-5), 121.9 (C-6), 32.1 (C-7), 32.2 (C-8), 50.4 (C-9), 37.0 (C-10), 21.3 (C-11), 39.4 (C-12), 42.5 (C-13), 56.9 (C-14), 24.5 (C-15), 30.3 (C-16), 56.3 (C-17), 12.2 (C-18), 19.5 (C-19), 36.4 (C-20), 19.1 (C-21), 34.2 (C-22), 26.4 (C-23), 46.1 (C-24), 29.5 (C-25), 20.0 (C-26), 19.3 (C-27), 23.4 (C-28), 12.0 (C-29), 102.6 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.7 (C-

4'), 78.2 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献[16]报道的 daucosterol 一致,故鉴定化合物 **5** 为胡萝卜苷(daucosterol)。

化合物 **6** 白色油状物, $C_{18}H_{32}O_2$, EI-MS m/z 280 $[M]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.26 (1H, br s, 1-OH), 5.32 ~ 5.41 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 2.80 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-11), 2.29 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2), 2.01 ~ 2.11 (4H, m, H-8, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.30 ~ 1.40 (14H, m, H-4, H-5, H-6, H-7, H-15, H-16, H-17), 0.89 (3H, t, $J = 13.8$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 173.9 (C-1), 33.4 (C-2), 24.8 (C-3), 29.0 (C-4), 29.1 (C-5), 29.2 (C-6), 29.5 (C-7), 26.9 (C-8), 129.8 (C-9), 127.9 (C-10), 25.3 (C-11), 127.9 (C-12), 129.8 (C-13), 26.9 (C-14), 29.3 (C-15), 31.3 (C-16), 22.3 (C-17), 13.4 (C-18)。以上数据与文献[17]报道的 α -亚油酸一致,故鉴定化合物 **6** 为 α -亚油酸(α -linoleic acid)。

化合物 **7** 白色油状物, $C_{18}H_{30}O_2$, ESI-MS m/z 277.2 $[M - H]^+$ 。 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 5.39 ~ 5.32 (6H, m, H-9, H-10, H-12, H-13, H-15, H-16), 2.80 (4H, t, $J = 5.0$ Hz, H-11, H-14), 2.25 (2H, t, $J = 5.0$ Hz, H-2), 2.05 (4H, m, H-8, H-17), 1.59 (2H, s, H-3), 1.33 (8H, s, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.89 ~ 0.98 (3H, m, H-18); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) δ : 178.6 (C-1), 33.9 (C-2), 24.7 (C-3), 29.0 (C-4), 29.1 (C-5, C-6), 29.6 (C-7), 27.2 (C-8), 130.3 (C-9), 127.8 (C-10), 25.6 (C-11, C-14), 128.3 (C-12, C-13), 127.1 (C-15), 132.0 (C-16), 20.6 (C-17), 14.3 (C-18)。以上数据与文献[18]报道的 α -亚麻酸一致,故鉴定化合物 **7** 为 α -亚麻酸(α -linolenic acid)。

化合物 **8** 淡黄色油状物, $C_{18}H_{30}O_2$, ESI-MS m/z 279.3 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.32 (6H, m, H-6, H-7, H-9, H-10, H-12, H-13), 2.74 (2H $\times$ 2, t, $J = 6.1$ Hz, H-8, H-11), 2.30 (2H, t, $J = 6.1$ Hz, H-2), 2.02 (2H $\times$ 2, m, H-5, H-14), 1.60 (2H, s, H-3), 1.29 (2H $\times$ 7, br s, H-4, H-5, H-6, H-15, H-16, H-17), 0.85 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 178.6 (C-1), 33.8 (C-2), 24.7 (C-3), 29.1 (C-4), 27.2 (C-5), 132.0 (C-6), 127.8 (C-7), 25.6 (C-8), 130.3 (C-9), 127.1 (C-10), 25.5 (C-11), 128.3 (C-12), 128.3 (C-13), 29.0 (C-14), 29.1 (C-15), 29.6 (C-16), 20.6 (C-17),

14.3(C-18)。以上数据与文献[19]报道的数据一致,鉴定化合物**8**为 γ -亚麻酸(γ -linolenic acid)。

化合物**9** 浅黄色油状物, C₁₈ H₃₄ O₂, EI-MS m/z [M]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.29 (2H, s, H-9, H-10), 2.21 (2H, t, J = 7.6 Hz, H-2), 1.98 (4H, s, H-8, H-11), 1.55 (2H, m, H-3), 1.25 ~ 1.28 (21H, H-4, H-7, H-12 ~ H-17), 0.85 (3H, H-18); ¹³C-NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ : 177.8 (C-1), 35.0 (C-2), 26.1 (C-3), 30.2 (C-4), 30.3 (C-5), 30.4 (C-6), 30.2 (C-7), 28.1 (C-8), 130.7 (C-9), 130.8 (C-10), 28.1 (C-11), 30.5 (C-12), 30.6 (C-13), 30.8 (C-14), 30.8 (C-15) 33.1 (C-16), 23.7 (C-17), 14.6 (C-18)。以上数据与文献[20]报道的数据一致,故鉴定化合物**9**为油酸(oleic acid)。

【参考文献】

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:68-69.

[2] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2002:70,325.

[3] 魏·吴普. 神农本草经[M]. 孙冯翼, 辑. 北京: 人民卫生出版社, 1963: 18.

[4] 谢明, 杨爽爽, 王亮亮, 等. 中药车前子的研究进展[J]. 黑龙江医药, 2015, 28(3):474-476.

[5] 颜秋萍, 郑杰, 郑扬, 等. 车前草中多酚的抗氧化活性[J]. 光谱实验室, 2012, 29(5):2739-2742.

[6] Kim J H, KANG T W, Ahn Y K. The effect of Plantago-mucilage A from the seed of *Plantago asiatica* on the immune response in ICR mice [J]. Cent Food Drug Safety, 1996, 19(2):137-142.

[7] 李芬芬, 黄丹菲, 江乐明, 等. 大粒车前子多糖对脂多糖刺激 RAW264.7 巨噬细胞的免疫调节作用[J]. 食品科学, 2014, 35(23):249-252.

[8] 颜升, 曾金祥, 毕莹, 等. 车前子提取物对正常小鼠利尿活性及肾脏水通道蛋白与离子通道的作用[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(12):968-971.

[9] KONG L D, CAI Y, HUANG W W, et al. Inhibition of

xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout [J]. J Ethnopharmacol, 2000, 73 (1/2): 199-207.

[10] 曾金祥, 魏娟, 毕莹, 等. 车前子醇提物降低急性尿酸血症小鼠血尿酸水平及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9):173-177.

[11] 曾金祥, 毕莹, 许兵兵, 等. 车前子提取物部位群抗痛风的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 132-135.

[12] 曹煦, 李创军, 杨敬芝, 等. 雷公藤叶化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(8):1028-1031.

[13] Hisahiro K, Masaki B, Toru O. Two new megastigmanes from the leaves of *Cucumis sativus* [J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(1):133-136.

[14] XIA L Z, ZHOU M, XIAO Y H, et al. Chemical constituents from *Helwingia japonica* [J]. Chin J Nat Med, 2010, 8(1):16-20.

[15] ZHOU H F, JIAN R J, KANG J, et al. Anti-inflammatory effects of caper (*Capparis spinosa* L.) fruit aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. [J]. J Agr Food Chem, 2010, 58(24):12717-12721.

[16] Paulo A, Jimeno M L, Gomes E T, et al. Steroidal alkaloids from *Cryptolepis obtusa* [J]. Phytochemistry, 2000, 53(20):417-422.

[17] Alamsjah M A, Hirao S, Ishibashi F, et al. Algicidal activity of polyunsaturated fatty acids derived from *Ulva fasciata* and *U. pertusa* (Ulvaceae, Chlorophyta) on phytoplankton [J]. J Appl Phycol, 2008, 20(5): 713-720.

[18] WANG X Y, LIU L P, KANG T G, et al. Chemical constituents of *Euphorbia fischeriana* [J]. Chin J Nat Med, 2012, 10(4):229-302.

[19] 毕博, 牛春林, 包京姗, 等. 翻白草化学成分[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(4):425-427.

[20] 余振喜, 王钢力, 戴忠, 等. 萝卜秦艽化学成分的研究 II [J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(17):1295-1298.

【责任编辑 顾雪竹】