

云南产玛卡乙酸乙酯部位化学成分研究^①

肖蒙蒙, 王 燕, 邓 君

西南大学 药学院, 重庆 400715

摘要: 研究云南产黄色玛卡根部乙酸乙酯部位的化学成分. 采用硅胶柱色谱、薄层色谱、制备高效液相等方法进行分离纯化, 通过理化常数和波谱数据鉴定化合物结构. 从玛卡根部乙酸乙酯部位分离鉴定了 8 个化合物, 分别为 ①N-苄基十六碳酰胺, ② β -谷甾醇, ③N-苄基十八碳酰胺, ④松脂素, ⑤苯乙酰胺, ⑥ β -胡萝卜素, ⑦尿嘧啶, ⑧松脂素-4'-O- β -D-葡萄糖苷, 其中化合物⑧首次从玛卡中获得.

关 键 词: 十字花科; 玛卡; 乙酸乙酯部位; 化学成分

中图分类号: R914

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2017)02-0059-05

玛卡(*Lepidium meyerii*)独行菜是十字花科(Cruciferae)独行菜属的一年生草本植物, 原产于秘鲁海拔 3 500 m 以上的安第斯山区^[1].

在安第斯山脉, 玛卡被作为传统医药和食物来源, 含有丰富的营养物质, 另外还含有玛卡酰胺、玛卡烯、芥子油苷、异硫氰酸酯、甾醇、多酚等次生代谢产物. 玛卡传统应用中具有提高生育力, 改善性功能^[2]等作用. 近些年的研究发现玛卡还可以预防骨质疏松症^[3], 预防前列腺增生^[4], 提高记忆力和学习能力, 缓解更年期综合症, 抗抑郁症^[5], 抗贫血, 保护肌肤免受紫外线辐射等作用. 但是由于玛卡生长快速, 种植玛卡会消耗大量土壤肥效, 因此, 在原产地能种植玛卡的土地越来越少. 目前玛卡产量远远不能满足国际市场需求, 故美国、日本、澳大利亚、西班牙等国都相继引种并获得成功, 我国也于 20 世纪 90 年代开始玛卡的引进试种^[6]. 为全面了解其药用价值, 本实验对云南产黄色玛卡根 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位进行了化学成分研究.

1 材料和方法

1.1 仪器和材料

LCMS-8030 高效液相色谱质谱联用仪, 日本岛津; DSC 200PC 差热分析仪, 德国耐驰; AVANCE III 400 MHz 核磁共振波谱仪, AVANCE III 600 MHz 核磁共振波谱仪, 瑞士布鲁克; L-2130 高效液相色谱仪, 日本日立; Inertsil ODS-3 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 3 μ m), Inertsil ODS-3 色谱柱(20 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m), 日本岛津; GF254 柱色谱硅胶(300~400 目)和薄层色谱硅胶, 青岛海洋化工; 甲醇、乙腈为色谱级试剂, 赛默飞世尔科技; 其余试剂均为市售分析纯, 重庆川东化工.

黄色玛卡药材于 2014 年 10 月采集于云南省鹤庆县, 由西南大学药学院邓君副教授鉴定为十字花科独行菜属植物 *Lepidium meyerii* 的下胚轴部分, 凭证标本保存于西南大学药学院中医药教研室.

1.2 实验方法

干燥的玛卡根 10 kg 被粉碎取细粉用 95% 的乙醇浸泡提取 5 次, 每次 24 h, 浸泡期间不断搅拌, 滤液

① 收稿日期: 2016-09-02

作者简介: 肖蒙蒙(1990-), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事中药化学及天然产物的研究.

通信作者: 邓 君, 副教授, 硕士研究生导师.

合并后用旋转蒸发仪 45° 浓缩, 得到乙醇提取物 1 300 g, 粗提取物加水混悬后依次用等量的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇各萃取 3 次, 分别减压回收得石油醚部位(116 g), 乙酸乙酯部位(24.7 g), 正丁醇部位(204.3 g), 水提取部位(904.6 g). 取乙酸乙酯部位, 经硅胶柱层析, 以水饱和的乙酸乙酯-乙醇(100 : 0, 99 : 1, 98 : 2, 95 : 5, 90 : 10, 85 : 15, 80 : 20)冲洗, 每 300 mL 为 1 流分收集, 浓缩至 10 mL 点样, 薄层检测合并相似成分, 得到 14 个流分. 流分 Fr. 2 经硅胶柱层析, 以氯仿-石油醚(2 : 0.8)反复洗脱得到 3 个流分(Fr. 2a, Fr. 2b, Fr. 2c). Fr. 2a 再经硅胶柱层析, 以氯仿-丙酮(9 : 1)反复洗脱得到化合物①(55 mg); Fr. 2b 经硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯(9 : 1)反复洗脱得到化合物②(21 mg); Fr. 2c 经硅胶柱层析, 以氯仿-乙酸乙酯(98 : 2)反复洗脱得到化合物, 再经重结晶的方法获得化合物③(12 mg). Fr. 3 经柱层析分离, 以氯仿-丙酮(98 : 2)反复洗脱, 后经制备液相乙腈-水(45 : 55)洗脱 20 min, 后用浓度(100 : 0)洗脱 10 min, 流速为 8 mL/min, 柱温设置为 25 °C, 检测波长 254 nm, 进样量设定为 0.5 mL, 收集 15 min 出现的峰, 得到化合物④(20 mg). Fr. 5 经柱层析分离, 以氯仿-丙酮(9 : 1)反复洗脱, 得到流分 Fr. 5 a. Fr. 5 a 经过制备液相甲醇-水(25 : 75)洗脱 15 min, 后用甲醇-水(100 : 0)洗脱 10 min, 流速为 8 mL/min, 柱温设置为 25 °C, 检测波长 254 nm, 进样量设定为 0.5 mL, 收集 7 min 出现的峰, 得到化合物⑤(30 mg). Fr. 9 经柱层析分离, 以氯仿-甲醇(94 : 6)反复洗脱, 得到流分 Fr. 9a, Fr. 9b. Fr. 9a 在氯仿甲醇(2 : 1)中出现结晶, 得到化合物⑥(24 mg); Fr. 9b 经制备薄层色谱氯仿-甲醇(9 : 1)得到化合物⑦(13 mg). Fr. 12 经柱层析分离, 以氯仿-甲醇(9 : 1)反复洗脱, 得流分 Fr. 12a. Fr. 12a 经制备薄层色谱[甲苯-乙酸乙酯-甲醇(1 : 2 : 0.3)]分离, 后再甲醇重结晶得到化合物⑧(15 mg).

2 鉴定结果

2.1 化合物①

白色晶体(氯仿), 异羟戊酸铁反应呈阳性, 提示结构中有酯类结构; 改良碘化铋钾反应呈阳性, 提示为生物碱类成分. EI-MS 给出分子量为 346 $[M+H]^+$, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据确定分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)谱图显示: 在低场给出 1 组苯质子信号 δ : 7.28~7.19(5H, m, H-Ph); 中场信号有 4.37(2H, d, $J=5.7$ Hz, H-1')以及连有 N 原子信号的质子信号 5.66(1H, br s, NH); 同时给出 2.13(2H, t, H-2), 1.57(2H, dt, $J=14.6, 7.1$ Hz, H-3), 1.20(22H, s), 0.80(3H, t, $J=6.8$ Hz, H-16)典型的长链烷基质子信号. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)谱图显示: 171.96(C-1)为羰基碳特征信号; 137.96(C-2'), 127.70(C-4', 6'), 126.82(C-3', 7'), 126.48(C-5')为苯环信号; 35.83(C-2), 30.91(C-14), 28.51(C-4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), 24.76(C-3), 21.67(C-15), 13.09(C-16)为长链烷基中碳信号; 42.60(C-1')碳原子为连有氨基的亚甲基碳信号. 以上波谱数据与文献报道的 N-苄基十六碳酰胺基本一致, 故鉴定化合物①为 N-苄基十六碳酰胺(N-benzylpalmitamide)^[7], 其化学式见图 1.

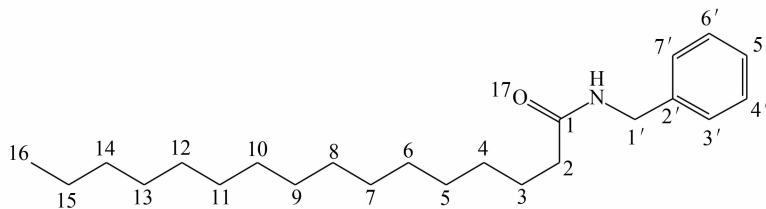


图 1 N-苄基十六碳酰胺的化学结构式

2.2 化合物②

无色针状晶体, mp 135~137 °C, 进行醋酐-浓硫酸反应呈阳性, 不同的薄层展开剂展开, 与 β -谷甾醇对照品比较, 二者的 R_f 值一致, 与对照品混合后熔点不降低. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)谱图显示, δ : 5.35(1H, m, H-6), 3.53(1H, m, H-3), 1.01(3H, s, H-18), 0.93(3H, d, H-21), 0.81, 0.83, 0.85 (9H, m, 3- CH_3), 0.68(3H, s, H-19). 数据与报道的 β -谷甾醇的核磁数据基本一致, 故鉴定化合物②为 β -谷甾醇(β -sitosterol)^[8].

2.3 化合物③

白色晶体(氯仿), 异羟戊酸铁反应呈阳性, 提示结构中有酯类结构; 改良碘化铋钾反应呈阳性, 提示

为生物碱类成分;溴甲酚绿反应呈阴性,提示结构中无游离羧基存在。EI-MS 给出分子量为 374 $[M+H]^+$, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据如下。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)谱图在低场给出一组苯质子信号 δ : 7.25(5H, m, H-Ph); 中场信号有 4.38(2H, d, $J=5.6$ Hz, H-1')以及连有 N 原子信号的质子信号 5.60(1H, s, NH); 同时给出 2.14(2H, t, H-2), 1.59(2H, m, H-3), 1.21(28H, s), 0.81(3H, t, $J=6.8$ Hz, H-18)典型的长链烷烃基质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)谱图显示: 171.96(C-1)为羰基碳特征信号; 137.96(C-2'), 127.70(C-4', 6'), 126.82(C-3', 7'), 126.48(C-5')为苯环信号; 35.83(C-2), 30.91(C-16), 28.54(C-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15), 24.76(C-3), 21.67(C-17), 13.09(C-18)为长链烷烃中碳信号; 42.60(C-1')碳原子为连有氨基的亚甲基碳信号。以上波谱数据与文献^[9]基本一致, 故鉴定化合物③为 N-苄基十八碳酰胺(N-benzyl octadecanamide), 其化学结构式见图 2。

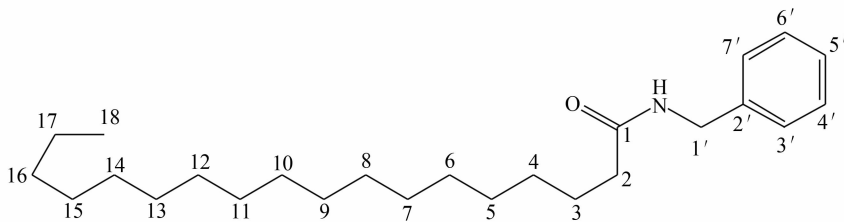


图2 N-苄基十八碳酰胺的化学结构式

2.4 化合物④

白色粉末状, mp 118~120 $^{\circ}\text{C}$, 用体积分数 10% 的硫酸-乙醇显色呈蓝色, 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性, 表明存在酚羟基。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6)谱图在低场区还有 2 个活泼氢质子信号 δ : 8.98(2H, s, 4', 4''-OH), 6 个芳香质子信号 6.89(2H, s, H-2', 2''), 6.74(4H, m, H-5', 5'', 6', 6''), 2 个甲氧基信号 3.76(6H, s, 3', 3''-OCH₃), 6 个连氧碳上质子信号: 3.72~4.12(4H, m, $J=7.7$ Hz, H-4, 8), 4.60(2H, br s, H-2, 6)。此外, 可见 2 个次甲基信号 3.03(2H, s, H-1, 5)。

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6)谱图显示: 148.06(C-3', 3''), 146.53(C-4', 4''), 132.79(C-1', 1''), 119.15(C-6', 6''), 115.69(C-5', 5''), 111.03(C-2', 2''), 85.67(C-2, 6), 71.40(C-4, 8), 55.16(3', 3''-OCH₃), 54.09(C-1, 5)。以上波谱数据与文献^[10]报道的松脂素基本一致, 故鉴定化合物④为松脂素(Pinoresinol), 其化学结构式见图 3。

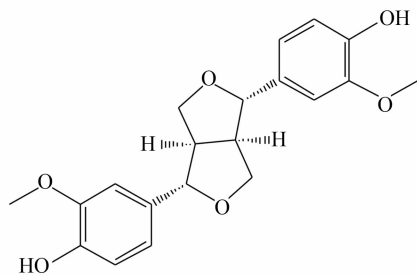


图3 松脂素的化学结构式

2.5 化合物⑤

白色针晶(氯仿), mp 155~156 $^{\circ}\text{C}$, 改良的碘化铋钾反应呈阳性, 可能是含氮化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6)谱图显示: 一组苯环信号 δ : 7.35~7.18(5H, m, H-Ph), 在高场给出 3.36(2H, s, H-2)为亚甲基质子信号, 6.86(1H, s), 7.45(1H, s)为 NH₂ 基的自由氢。

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6)谱图显示: 低场 172.71(C-1)为羰基的特征信号; δ 136.96(C-1'), 129.50(C-3', 5'), 128.59(C-2', 6'), 126.71(C-4')一组苯环信号, 且为单取代苯环; 中场给出 43.35(C-2)为亚甲基碳信号, 并连有吸电基团。EI-MS 136 $[M+H]^+$ 。以上波谱数据与文献^[11]报道的苯乙酰胺基本一致, 故鉴定化合物⑤为苯乙酰胺(Benzeneacetamide), 其化学结构式见图 4。

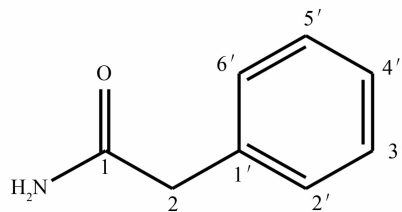


图4 苯乙酰胺的化学结构式

2.6 化合物⑥

白色粉末(甲醇), mp 298~300 $^{\circ}\text{C}$, 醋酐-浓硫酸反应呈阳性, 3 种不同的薄层展开条件, R_f 值与 β -胡萝卜素对照品一致, 并且与对照品混合后熔点不改变, 故鉴定化合物⑥为 β -胡萝卜素(β -daucosterol)。

2.7 化合物⑦

白色粉末(甲醇), mp 334~335 °C, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6)谱图显示: 10.94(1H, br s NH), 7.39(1H, d, $J=7.6$ Hz, H-6), 5.45(1H, d, $J=7.6$ Hz, H-5). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6)谱图显示: 164.80(C-2), 151.99(C-4), 142.67(C-6), 100.68(C-5). 以上数据与参考文献^[12, 13]对照基本一致, 故鉴定化合物⑦为尿嘧啶(Uracil), 其化学结构式见图 5.

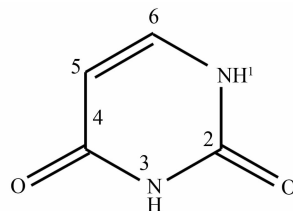


图 5 尿嘧啶的化学结构式

2.8 化合物⑧

白色无定形粉末(甲醇), $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD)谱图显示: δ : 7.04(1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5), 6.93(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2'), 6.85(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2), 6.81(1H, dd, $J=8.4, 1.8$ Hz, H-6'), 6.71(1H, dd, $J=8.2, 1.8$ Hz, H-6), 6.66(1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 4.78(1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1''), 4.66(1H, d, $J=4.2$ Hz, H-7), 4.60(H, d, $J=4.5$ Hz, H-7'), 3.77(3H, s, OCH_3), 3.75(3H, s, OCH_3), 4.14(2H, td, $J=7.1, 8.9$ Hz, H-9 β , 9' β), 3.74(2H, m, H-9 α , 9' α), 3.03(2H, m, H-8, 8'), 3.58~3.25(sugar H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD)谱图显示: 葡萄糖碳信号: 101.54(C-1''), 73.55(C-2''), 76.49(C-3''), 70.00(C-4''), 76.83(C-5''), 61.16(C-6''); 其他信号为 149.68(C-4'), 147.75(C-3'), 146.14(C-3), 145.97(C-4), 136.17(C-1), 132.43(C-1'), 118.67(C-6'), 118.41(C-6), 116.80(C-5), 114.74(C-5'), 110.38(C-2'), 109.69(C-2), 86.10(C-7), 85.69(C-7'), 71.34(C-9), 71.30(C-9'), 55.43(C- OCH_3), 55.09(C- OCH_3), 54.14(C-8), 53.97(C-8'), 以上数据与文献^[14]报道的松脂素-4'-O- β -D-葡萄糖苷数据一致, 故鉴定化合物⑧为松脂素-4'-O- β -D-葡萄糖苷(Pionresinol-4'-O- β -glucoside), 该化合物首次在玛卡中发现, 其化学结构式见图 6.

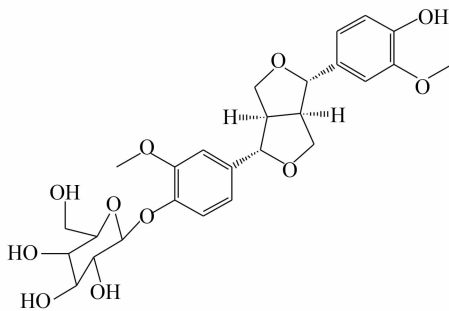


图 6 松脂素-4'-O- β -D-葡萄糖苷的化学结构式

3 讨 论

化合物⑧是化合物④和糖结合的苷类物质, 化合物④在以往文献已经被发现存在玛卡中^[15], 更能证明化合物⑧存在的可能性和真实性. 该化合物的发现完善了玛卡的化学成分, 并为玛卡今后的开发利用奠定了一定的物质基础.

参考文献:

- [1] 金文闻. 药食两用植物玛咖(*Lepidium meyenii*)的功效物质研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2007.
- [2] 蒋寒林. 外来物种玛咖主要化学成分研究 [D]. 上海: 华南理工大学, 2014.
- [3] 张永忠. 玛咖对更年期综合征及骨质疏松的实验研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [4] GONZALES C, LEIVA-REVILLA J, RUBIO J, et al. Effect of Red Maca (*Lepidium Meyenii*) on Prostate Zinc Levels in Rats with Testosterone-Induced Prostatic Hyperplasia [J]. *Andrologia*, 2012, 44(S1): 362-369.
- [5] RUBIO J, CALDAS M, DAVILA S, et al. Effect of Three Different Cultivars of *Lepidium Meyenii* (Maca) on Learning and Depression in Ovariectomized Mice [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2006(6): 23.

- [6] 谢荣芳, 瞿 熙. 玛卡引种及栽培技术 [J]. 云南农业科技, 2008(4): 42—43.
- [7] MUHAMMAD I, ZHAO J, DUNBAR D C, et al. Constituents of *Lepidium meyenii* ‘Maca’ [J]. Phytochemistry, 2002, 59(1): 105—110.
- [8] BOUSETLA A, ZELLAGUI A, DEROUCHE K, et al. Chemical Constituents of the Roots of Algerian *Bunium Incrasatum* and Evaluation of its Antimicrobial Activity [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2015, 8(3): 313—316.
- [9] PIACENTE S, CARBONE V, PLAZA A, et al. Investigation of the Tuber Constituents of Maca (*Lepidium meyenii* Walp) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(20): 5621—5625.
- [10] 李 萍, 左甜甜, 王晓秋, 等. 半枝莲的化学成分研究(Ⅱ) [J]. 中国药物化学杂志, 2008, 18(5): 374—376.
- [11] 宋福行, 范 晓, 徐秀丽, 等. 褐藻叉开网翼藻化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(2): 125—128.
- [12] 何 康, 曹团武, 王洪玲, 等. 贵州獐牙菜的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(19): 3811—3817.
- [13] 邹忠杰, 杨峻山, 鞠建华. 泥胡菜的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(10): 812—813.
- [14] 杨爱梅, 鲁润华, 师彦平. 圆穗兔耳草化学成分的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(3): 337—339.
- [15] BAI N, HE K, ROLLER M, et al. Flavonolignans and Other Constituents from *Lepidium meyenii* with Activities in Anti-inflammation and Human Cancer Cell Lines [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(9): 2458—2463.

On Chemical Constituents of Ethyl Acetate Fraction from *Lepidium Meyenii*

XIAO Meng-meng, WANG Yan, DENG Jun

College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Researches have been done to study the chemical constituents of ethyl acetate fraction of yellow Maca (*Lepidium meyenii*). Isolation and purification have been carried out on column chromatography of silica gel, TLC and preparative HPLC. The structures of these compounds have been elucidated by physico-chemical properties and spectral data. It is concluded that eight compounds are isolated from *Lepidium meyenii*, which are identified as ①N-benzyl-palmitamide, ② β -sitosterol, ③N-benzyl-octadecanamide, ④Pinoresinol, ⑤Benzeneacetamide, ⑥ β -daucosterol, ⑦Uracil, ⑧Pinoresinol-4'-O-glucoside. The result is that one compound ⑧ is isolated from *Lepidium meyenii* for the first time.

Key words: Cruciferous; *Lepidium meyenii*; ethyl acetate fraction; chemical constituents

责任编辑 周仁惠