

丽江产玛咖中的1个新玛咖酰胺

刘文星，董淼，张芮绮，马祖红，杨桥芬，陈彦君，叶艳青，廖凌敏，肖永昊，江志勇，周敏^{*}
云南民族大学化学与环境学院，云南 昆明 650500

摘要：目的 研究产自丽江的玛咖 *Lepidium meyenii* 的干燥根茎的化学成分和生物活性。方法 样品经 90%乙醇水提取后，再经硅胶柱、微孔树脂（MCI）和高效液相色谱法等方法分离有效成分，通过核磁共振技术（包括二维核磁 HSQC、HMBC 和 COSY）进行结构鉴定，采用 MTT 法对新化合物进行抗肿瘤活性测试。结果 从玛咖根中分离得到 3 个玛咖酰胺类化合物，分别鉴定为 *N*-(3,4-二甲氧基苄基) 十六碳-9Z-烯酰胺（1）、*N*-苄基-13-酮基-9E,11E-十八碳二烯酰胺（2）和 *N*-(3,4-二甲氧基苄基)-十六碳酰胺（3）。结论 化合物 1 为新化合物，命名为玛咖新胺 A；该化合物对人 5 种癌细胞（NB4、A549、SHSY5Y、PC3、MCF7）没有明显细胞毒活性。

关键词：玛咖；玛咖酰胺；*N*-(3,4-二甲氧基苄基) 十六碳-9Z-烯酰胺；玛咖新胺 A；细胞毒活性

中图分类号：R284.1 文献标志码：A 文章编号：0253-2670(2018)19-4491-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.004

A new macamide from *Lepidium meyenii* cultivated in Lijiang

LIU Wen-xing, DONG Miao, ZHANG Rui-qi, MA Zu-hong, YANG Qiao-fen, CHEN Yan-jun, YE Yan-qing, LIAO Ling-min, XIAO Yong-hao, JIANG Zhi-yong, ZHOU Min

School of Chemistry and Environment, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the dried roots of *Lepidium meyenii* cultivated in Lijiang. **Methods** The samples were extracted by 90% alcohol, and then isolated by silica column, MCI, and HPLC. The structures of the isolated compounds were elucidated by NMR techniques including 2D NMR such as HSQC, HMBC, and COSY. The cytotoxic activity of the new compound against five cell lines (NB4, A549, PC3, SHSY5Y, and MCF7) was evaluated by MTT methods. **Results** Three macamides were isolated and identified as *N*-(3,4-dimethoxybenzyl) hexadec-9Z-enamide (1), *N*-benzyl-13-oxo-9E,11E-octadecadienamide (2) and *N*-(3,4-dimethoxybenzyl)-hexadecanamide (3) from this plant. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named macalepidiumide A and shows no significant cytotoxic activity.

Key words: *Lepidium meyenii* Walp.; macamides; *N*-(3,4-dimethoxybenzyl) hexadec-9Z-enamide; macalepidiumide A; cytotoxic activity

玛咖 *Lepidium meyenii* Walp. 为十字花科 (Cruciferae) 独行菜属 *Lepidium* L. 植物，原产于南美洲秘鲁的安第斯山脉，根据颜色不同，分为黑、白、黄、红等 13 个类型^[1]。玛咖富含多种营养成分和药用价值，含有玛咖烯、玛咖酰胺、多糖等活性成分^[2]，具有抗疲劳、抗骨质疏松^[1]、抗肿瘤、改善性功能、抗疲劳、调节内分泌、提高记忆力和学习能力等功效^[2-3]。为了得到具有生物活性的植物化学成分，本课题组对玛咖做了持续的研究，发现了结构新颖的具有抗肿瘤活性的六氢咪唑并 [1,5-c] 嘴唑类化合物 (+)-meyeniin A~C^[4]、吡咯生物碱

macapyrrolin A~C^[5]，并对该植物中的化学成分进行了仿生合成^[6]。在最近的研究中，从采自丽江的玛咖的 90%乙醇水提物中发现了 1 个新的玛咖酰胺 *N*-(3,4-二甲氧基苄基) 十六碳-9Z-烯酰胺 [*N*-(3,4-dimethoxybenzyl) hexadec-9Z-enamide, 1]，结构见图 1] 和 2 个类似物 *N*-苄基-13-酮基-9E,11E-十八碳二烯酰胺 (*N*-benzyl-13-oxo-9E,11E-octadecadienamide, 2)、*N*-(3,4-二甲氧基苄基)-十六碳酰胺 [*N*-(3,4-dimethoxybenzyl)-hexadecanamide, 3]。并对化合物 1 进行了体外抑制肿瘤细胞增殖活性研究。

收稿日期：2018-06-25

基金项目：国家自然科学基金资助项目（21262048, 31560099）；烟草技术与装备研究重点实验室开放项目（2016GYSYS03）

作者简介：刘文星（1986—），男，讲师，研究方向为天然药物化学。E-mail: liuwenxing2017@163.com

*通信作者 周敏（1984—），男，副教授，研究方向为天然药物化学。E-mail: zhouminyin@163.com

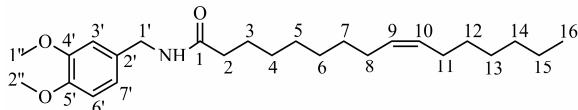


图 1 化合物 1 的结构

Fig. 1 Structure of compound 1

1 仪器与材料

Agilent-1100 型高效液相色谱仪、Zorbax SB 型 C₁₈ 色谱柱、Agilent 8453 型紫外可见光谱仪（美国 Agilent 公司）；NICOLET iS10 型傅里叶变换红外光谱仪（德国 Thermo 公司）；Autospec-3000 型质谱仪（英国 VG 公司）；Bruker AV III-400 核磁共振仪（德国 Bruker 公司）；硅胶（100~200、200~300 目）、TLC（青岛海洋化工厂）；MCI-gel CHP-20P 材料（日本三菱公司）；Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶（美国 GE 公司），试剂均为色谱纯或分析纯（天津天泰精细化学品有限公司）。

玛咖于 2014 年 9 月购自云南省丽江市，经云南民族大学杨青松副教授鉴定为玛咖 *Lepidium meyenii* Walp.，植物标本（YNNI-14-09-25）存放于云南民族大学民族药资源化学国家民委教育部重点实验室。

2 提取与分离

将干燥的 25.0 kg 玛咖根粉碎到 100~200 目，加 90% 乙醇水溶液 25 L 浸泡 2 d，超声提取 4 次，得到玛咖提取物 5.8 kg。然后在提取物中加入适量的水，溶解后分别用二氯甲烷和醋酸乙酯萃取，合并有机相进行减压蒸馏，得到浸膏 280 g。

浸膏用 100~200 目硅胶装柱，使用二氯甲烷-丙酮（1:0、9:1、8:2、7:3、6:4、1:1）进行梯度洗脱，最后用纯甲醇洗脱，TLC 监测合并相同的部分，将浸膏分成 6 个组分 A~F。组分 B（35.0 g）进行柱色谱，石油醚-二氯甲烷（1:0、8:2、6:4、1:1、1:2、0:1）梯度洗脱，得到组分 B1~B5，组分 B3（2.0 g）使用甲醇-水（2:8→10:0）在 MCI 柱中洗脱得到组分 B31~B34。B33（0.9 g）经过高效液相色谱仪进一步分离得到化合物 1（80 mg）、2（11.2 mg）和 3（10.3 mg）。

3 结构鉴定

化合物 1：无色胶状物，IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹)：3 282, 2 920, 1 622, 1 510, 1 450, 702。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm)：212 (4.12), 272 (3.51)。ESI-MS m/z : 426 [M+Na]⁺。¹H-NMR（表 1）显示该化合物有 3 个重叠的芳氢 (δ_{H} 6.79, s)^[7]、1 个酰胺氢 (δ_{H} 5.85, brs)、2 个取代的烯

氢 (δ_{H} 5.32, m; 5.33, m)、2 个甲氧基 (δ_{H} 3.84, s) 和 1 个甲基信号 (δ_{H} 0.86, t, J = 6.6 Hz)；在 ¹³C-NMR（表 1）中共有 25 个碳信号，其中包括 1 个酰基碳 (δ_{C} 173.0)、1 个苯环 (δ_{C} 131.1, 111.2, 149.2, 148.5, 111.2, 120.1)、1 对烯碳 (δ_{C} 129.8, 130.1)、2 个甲氧基碳 (δ_{C} 55.9, 56.0)、12 个亚甲基碳 (δ_{C} 22.7~44.4) 和 1 个甲基碳 (δ_{C} 14.2)。以上这些核磁信号可以推断化合物 1 为 1 个含有烯键的典型的玛咖酰胺类化合物^[7]。经过文献比对，确定了烯键位于 C-9 和 C-10^[8]，而且，由 δ_{C} 27.2 (C-8) 和 δ_{C} 27.3 (C-11) 的化学位移值确定了烯键为顺式双键^[9]。在 HMBC(图 2) 中， δ_{H} 3.84 和 149.2 (C-4')、148.5 (C-5') 的相关信号证实了化合物 1 中的 2 个甲氧基分别位于 C-4'

表 1 化合物 1 的 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 和 ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

Table 1 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) and ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) data of compounds 1

| 碳位 | δ_{C} | δ_{H} |
|-----------|---------------------|--------------------------------|
| 1 | 173.0 | |
| 2 | 36.9 | 2.18 (2H, t, J = 7.6 Hz) |
| 3 | 25.9 | 1.63 (2H, m) |
| 4 | 29.0 | 1.26 (2H, brs) |
| 5 | 29.2 | 1.26 (2H, brs) |
| 6 | 29.4 | 1.30 (2H, brs) |
| 7 | 29.8 | 1.30 (2H, brs) |
| 8 | 27.2 | 1.97 (2H, m) |
| 9 | 129.8 | 5.32 (1H, m) |
| 10 | 130.1 | 5.33 (1H, m) |
| 11 | 27.3 | 1.97 (2H, m) |
| 12 | 29.8 | 1.30 (2H, brs) |
| 13 | 29.4 | 1.26 (2H, brs) |
| 14 | 31.8 | 1.27 (2H, brs) |
| 15 | 22.7 | 1.26 (2H, brs) |
| 16 | 14.2 | 0.86 (3H, t, J = 6.6 Hz) |
| 1' | 44.4 | 4.33 (1H, brs), 4.34 (1H, brs) |
| 2' | 131.1 | |
| 3' | 111.2 | 6.79 (1H, s) |
| 4' | 149.2 | |
| 5' | 148.5 | |
| 6' | 120.1 | 6.79 (1H, s) |
| 7' | 111.2 | 6.79 (1H, s) |
| 4'/5'-OMe | 55.9/56.0 | 3.84 (6H, s) |
| NH | | 5.85 (1H, brs) |

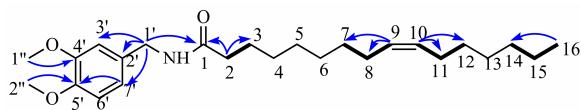


图2 化合物1的关键HMBC和COSY相关

Fig. 2 Key HMBC and COSY correlations of compound 1

和C-5'。至此，推断化合物1的结构为N-(3,4-二甲氧基苯基)十六碳-9Z-烯酰胺，为1个新化合物，命名为玛咖新胺A。

化合物2：黄色胶状物， $C_{25}H_{38}NO_2$ ； 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.31 (5H, m, H-3'~7'), 7.13 (1H, dd, J = 15.6, 3.2 Hz, H-11), 6.17 (2H, m, H-9, 10), 6.06 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-12), 4.40 (2H, s, H-1'), 2.52 (2H, t, J = 7.3 Hz, H-14), 2.20 (4H, m, H-2, 8), 1.62 (4H, m, H-3, 15), 1.45 (2H, m, H-7), 1.32 (10H, m, H-4~6, 16, 17), 0.89 (3H, t, J = 7.6 Hz, H-18), 5.82 (1H, brs, NH); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 201.3 (C-13), 173.1 (C-1), 146.9 (C-9), 143.2 (C-11), 138.5 (C-2'), 128.9 (C-6', 10), 128.8 (C-4'), 128.0 (C-3'), 127.6 (C-5', 7', 12), 43.7 (C-1'), 40.5 (C-14), 36.9 (C-2), 33.2 (C-8), 31.5 (C-16), 29.2 (C-4, 5, 6), 28.5 (C-7), 25.8 (C-3), 24.4 (C-15), 22.6 (C-17), 14.1 (C-18)。以上数据与文献对照一致^[9]，故鉴定化合物2为N-苄基-13-酮基-9E,11E-十八碳二烯酰胺。

化合物3：白色粉末， $C_{25}H_{43}NO_3$ ； 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.81 (3H, s, H-3', 6', 7'), 4.36 (2H, d, J = 5.7 Hz, H-1'), 3.86 (6H, s, -OMe), 2.20 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-2), 4.40 (2H, s, H-1'), 2.52 (2H, t, J = 7.3 Hz, H-14), 2.20 (4H, m, H-2, 8), 1.63 (2H, m, H-3), 1.24 (16H, m, CH₂), 0.87 (3H, t, J = 6.9 Hz, H-16), 5.69 (1H, brs, NH); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 173.1 (C-1), 149.3 (C-4'), 148.6 (C-5'), 131.2 (C-2'), 120.2 (C-6'), 111.3 (C-3', 7'), 56.1 (-OMe), 56.0 (-OMe), 43.5 (C-1'), 37.0 (C-2), 32.1 (C-14), 29.5~29.8 (C-4~13), 25.9 (C-3), 22.8 (C-15), 14.2 (C-16)。以上数据与文献对照一致^[7]，故鉴定化合物3为N-(3,4-二甲氧基苯基)-十六碳酰胺。

4 活性研究

采用MTT法^[10]对化合物1开展了白血病细胞

(NB4)、肺泡基底上皮癌细胞(A549)、神经母细胞瘤细胞(SHSY5Y)、前列腺癌细胞(PC3)和乳腺癌细胞(MCF7)等人类癌细胞的抗增殖活性研究，化合物1对这些细胞均无明显的细胞毒活性。

参考文献

- [1] 刘森, 黄莹莹, 林梦雅, 等. 黑玛咖不同提取物的抗疲劳作用与谱效关系研究 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2090-2096.
- [2] 潘明佳, 时圣明, 王文倩, 等. 玛咖的化学成分、药理作用及质量评价研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(12): 1558-1562.
- [3] 郑茜, 张庆贺, 卢丹, 等. 吉林产玛咖的化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2457-2460.
- [4] Zhou M, Ma H Y, Liu Z H, et al. (+)-Meyeniins A-C, novel hexahydroimidazo[1,5-c]thiazole derivatives from the tubers of *Lepidium meyenii*: Complete structural elucidation by biomimetic synthesis and racemic crystallization [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(9): 1887-1892.
- [5] Zhou M, Zhang R Q, Chen Y J, et al. Three new pyrrole alkaloids from the roots of *Lepidium meyenii* [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 23: 137-140.
- [6] Zhou M, Ma H Y, Xing H H, et al. Biomimetic synthesis of macahydantoins A and B from *Lepidium meyenii*, and structure revision of macahydantoin B as a class of thiohydantoin with a 4-methyl-hexahydropyrrolo[1,2-c]imidazole skeleton [J]. *Org Lett*, 2017, 19(18): 4952-4955.
- [7] Chain F E, Grau A, Martins J C, et al. Macamides from wild ‘Maca’, *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae) [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 8(1): 145-148.
- [8] Aursand M, Grasdalen H. Interpretation of the ^{13}C -NMR spectra of omega-3 fatty acids and lipid extracted from the white muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Chem Phys Lipids*, 1992, 62(3): 239-251.
- [9] Zhao J, Muhammad I, Dunbar D C, et al. New alkamides from maca (*Lepidium meyenii*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(3): 690-693.
- [10] Zhou M, Zhou K, Gao X M, et al. Fistulains A and B, new bischromones from the bark of *Cassia fistula*, and their activities [J]. *Org Lett*, 2015, 17(11): 2638-2641.