

马槟榔种仁化学成分研究

刘永芹¹, 邸迎彤², 王跃虎², 胡旭佳^{1*}¹昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500;²中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源国家重点实验室, 昆明 650204

摘要: 对生长于云南文山的山柑科山柑属植物马槟榔种仁的化学成分进行分离鉴定。通过硅胶、MCI 和 Sephadex LH-20 柱层析、分离纯化, 结果分离得到 8 个化合物, 运用现代波谱技术分别鉴定为: 1-methoxy-3-indoleformic acid (**1**)、恶唑烷-2-硫酮 (**2**)、O'-ethyl-1- β -D-arabinofuranosyluracil (**3**)、腺嘌呤核苷 (**4**)、阿洛酮糖腺苷 (**5**)、ethyl β -D-fructofuranoside (**6**)、1- β -D-psicofuranosyluracil (**7**)、尿嘧啶核苷 uridine (**8**)。化合物 **1**、**3**、**7** 是新的天然化合物。化合物 **4**、**5**、**6** 为首次从马槟榔植物中分离得到。

关键词: 马槟榔; 山柑属; 种仁; 化学成分

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.009

Chemical Constituents from the kernels of *Capparis masaiikai* LévlLIU Yong-qin¹, DI Ying-tong², WANG Yue-hu², HU Xu-jia^{1*}

¹Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; ²State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

Abstract: The chemical constituents of the kernels of *Capparis masaiikai* Lévl, Collected at Wenshan, Yunnan province, China were isolated by column chromatography on silica gel, MIC and Sephadex LH-20, and identified by chemical and spectral analyses. Eight compounds were finally isolated and purified from the kernels of *C. masaiikai*. Their structures were elucidated as 1-methoxy-3-indoleformic acid (**1**), Oxazolidine-2-thione (**2**), O'-ethyl-1- β -D-arabinofuranosyluracil (**3**), adenosine (**4**), psicofuranine (**5**), ethyl β -D-fructofuranoside (**6**), 1- β -D-psicofuranosyluracil (**7**), uridine (**8**). Compounds **1**, **3** and **7** were new natural compound from plants. Compounds **4**, **5** and **6** were obtained from this plant for the first time.

Key words: *Capparis masaiikai* Lévl; *Capparis*; kernels; chemical constituents

马槟榔 (*Capparis masaiikai* Lévl), 又名马金南、马金囊、水槟榔、太极子 (云南中药别名)、山槟榔 (云南西畴)、紫槟榔 (广西百色), 全世界有近 400 种, 我国约有 30 多种, 是山柑科 (Capparidaceae) 山柑属 (*Capparis*) 植物^[1]。属多年生常绿木质藤本、攀援灌木, 是一种珍稀濒危野生果树, 仅分布于我国热带和亚热带地区, 包括云南南部、广西西部及西北部和贵州南部^[2]。其性寒, 味苦甘。马槟榔以去皮种子入药, 具有清热解毒、止咳祛痰、生津止渴的功效; 此外, 马槟榔可治疗咽喉炎、恶疮肿毒、难产, 还具有消食、去斑痧和醒酒等作用, 是中成药“阮氏上

清丸”(昆明中药厂有限公司)的重要药源。《中华人民共和国药典》1977 版曾收录过马槟榔, 马槟榔是我国特有分布的、唯一在果实中富含甜蛋白的野生植物, 研究多集中在甜蛋白和组培栽培等领域, 但系统的化学成分研究报道较少。为了进一步利用马槟榔资源, 我们对马槟榔的化学成分进行了系统的分离, 从其种仁中得到 8 个单萜糖苷类化合物, 分别为 1-methoxy-3-indoleformic acid (**1**)、恶唑烷-2-硫酮 Oxazolidine-2-thione (**2**)、O'-ethyl-1- β -D-arabinofuranosyluracil (**3**)、腺嘌呤核苷 (**4**)、阿洛酮糖腺苷 (**5**)、ethyl β -D-fructofuranoside (**6**)、1- β -D-psicofuranosyluracil (**7**)、尿嘧啶核苷 (**8**)。化合物 **1**、**3**、**7** 是新天然产物。化合物 **4**、**5**、**6** 为首次从马槟榔植物中分离得到。

收稿日期: 2016-07-14 接受日期: 2016-12-29

基金项目: 国家自然科学基金 (31260399; 31460430; 31660437)

* 通讯作者 Tel: 86-871-65920570; E-mail: huxjia@gmail.com

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司);SK2200HP 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);SHZ-D(III)型真空泵(巩义市予华仪器系统有限公司);BS/BT 系列电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司);ZF-1 型三用紫外分析仪(其林贝尔仪器制造有限公司);JASCO DIP-370 型数字式旋光仪(Tokyo, Japan);DF-35 型粉碎机(温岭市林大机械有限公司);Bruker AM-400、DRX-500 及 DRX-600 型旋核磁共振仪;Bio-Rad FTS-135 型红外光谱仪测定,KBr 压片;UV210A 型紫外光谱仪;VG Auto Spec-3000 质谱仪;API-QSTAR-TOF 质谱仪;Agilent 1100 标准系列高效液相色谱仪,色谱柱为 Agilent (10 μ m, 4.6 mm \times 250 mm), 3 mL/min;正相拌样用硅胶为 60 ~ 80 目(青岛海洋化工厂);GF₂₅₄ 型薄层层析正相硅胶板(青岛海洋化工厂);正相柱层析用硅胶为 100 ~ 200、200 ~ 300、300 ~ 400 目(青岛海洋化工厂);反相填充材料为 Lichroprep RP-18 (40 ~ 63 μ m) (Merck 公司);MCI 填充材料为 MCI-gel CHP-20P (Pharmacia 公司);Sephadex LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Pharmacia 公司);显色剂为碘粉、FeCl₃-EtOH 溶液、6% H₂SO₄-EtOH 溶液及 5% 的磷钼酸溶液;石油醚、氯仿、二氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯、及甲醇等均为工业试剂,经重蒸后使用,其它所用试剂均为分析纯;液相用的色谱纯甲醇及乙腈为 Merck 公司生产,流动相用水为娃哈哈纯净水。

1.2 实验材料

马槟榔果实于 2013 年 10 月采自云南文山,植物标本由中国科学院昆明植物研究所彭华教授鉴定,其标本现存放于昆明理工大学生命与技术科学院药物分析实验组,标本号为 K M 20131020。

2 提取与分离

干燥的马槟榔果实,去果壳种皮,得到种仁 3.0 kg,用 90% 乙醇/水(90% ~ 70%)梯度冷浸提取 4 次(每次 20 L, 24 h),合并提取液,过滤,减压浓缩回收乙醇,得总浸膏 300 g。将总浸膏溶于蒸馏水,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次,回收有机溶剂得到石油醚部分(79 g)、氯仿部分(2 g)、乙酸乙酯部分(5 g),正丁醇部分(10 g)其余部分为水相部分(200 g)。通过 TLC 对比,氯仿部分和乙

酸乙酯部分点有相似之处,且量比较少,故将其合并,得到的合并浸膏 7 g。取 10 g 60 ~ 80 目的硅胶对其拌样,称取 50 g 200 ~ 300 目硅胶装柱。以石油醚/丙酮(100:0 \rightarrow 0:100)梯度洗脱,通过 TLC 特征对比,分为 3 个部分,Fr. A-Fr. C。Fr. A(220 mg)为黄色油状物,有油脂味,极性较小,纯石油醚洗脱时, R_f 值较高,根据分离原理和前人经验,推断为挥发性油或直链烷烃类成分,故未对其进行分离纯化。用凝胶柱(氯仿/甲醇 1:1)对 Fr. B(430 mg)段进行细化,再采用硅胶柱分离纯化,洗脱体系为石油醚/丙酮(20:1)等度洗脱,得到化合物 1(2.1 mg); Fr. C(39 mg)经过凝胶柱(甲醇 100%)细化除杂,再采用硅胶柱纯化,洗脱体系为氯仿/丙酮(15:1)等度洗脱,收集洗脱液,回收溶剂得到化合物 2(3.0 mg)。正丁醇部分(10 g)采用中压 RP-C₁₈(甲醇/水 1:5 \rightarrow 10:0)进行粗划段,分为 Fr. A-Fr. D 共 4 段,逐段进行纯化,Fr. A(4.9 g)运用 Sephadex LH-20 凝胶(氯仿/甲醇 1:1)进行细化除杂,TLC 验证点性较好的, Fr. A₂ 部分采用制备 HPLC(60% 的乙腈水)纯化,得到化合物 3(*t_R* = 17 min, 4.4 mg)。Fr. B(2.7 g)运用 Sephadex LH-20 甲醇凝胶细化,采用硅胶柱分离纯化,洗脱系统为氯仿/甲醇(50:1 \rightarrow 1:1)梯度洗脱,收集洗脱液,TLC 验证回收溶剂,分成四部分 Fr. B₁、Fr. B₄, Fr. B₂ 经半制备 HPLC(35% 的甲醇水)纯化,得到化合物 4(*t_R* = 18 min, 4.4 mg)。Fr. B₃ 经甲醇凝胶除杂,再采用 300 ~ 400 目硅胶柱分离纯化,洗脱系统为氯仿/甲醇(13:1)等度洗脱,收集洗脱液,回收溶剂,得到化合物 5(2.7 mg)。Fr. B₄ 经半制备 HPLC(30% 的甲醇水)纯化,得到化合物 6(*t_R* = 23 min, 1.8 mg)。Fr. C(1.9 mg)段极性比较大,展开剂氯仿/甲醇(8:2)才能展开,能溶于甲醇,考虑到正相硅胶柱吸附比较大,故多采用凝胶和高效液相色谱仪进行分离纯化。Fr. C 段先采用甲醇凝胶纯化初步除杂,再经半制备 HPLC(15% 的甲醇水)纯化,得到化合物 7(*t_R* = 20 min, 1.6 mg)。半制备 HPLC(10% 的甲醇水)纯化,得到化合物 8(*t_R* = 26 min, 2.2 mg)。Fr. D(0.9 mg)极性特别大,氯仿/甲醇(1:1)才能展开,且 TLC 特征,6% H₂SO₄-EtOH 显色剂,显亮黑色的点,结合极性考虑到多含有多糖,不作为目标分离对象。

3 结构鉴定

化合物 1 白色固体粉末;C₁₀H₉NO₃;EI-MS *m/z*

z : 192 $[M + H]^+$, $C_{10}H_{10}NO_3^+$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 8.21 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-4), 8.05 (1H, s, H-2), 7.48 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-7), 7.32 (2H, m, H-5, H-6), 4.16 (3H, s, OCH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 169.4 (C-10), 132.3 (C-9), 129.7 (C-8), 123.87 (C-2), 123.3 (C-6), 123.0 (C-5), 109.0 (C-7), 67.3 (N- OCH_3)。以上数据与文献^[3]报道一致,因此确定化合物 **1** 为 1-methoxy-3-indoleformic acid (图 1)。

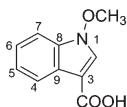


图 1 化合物 **1** 的结构

Fig. 1 Chemical structure of **1**

化合物 2 无色针状; C_3H_5NOS ; 1H NMR (600 MHz, $DOSO-d_6$) δ_H : 9.95 (1H, NH), 4.56 (2H, t), 3.65 (2H, t); ^{13}C NMR (150 MHz, $DOSO-d_6$) δ_C : 188.7 (C=S), 69.9 (C-5), 43.9 (C-4)。以上数据与文献^[4]报道一致,因此确定化合物 **2** 为 Oxazolidine-2-thione。

化合物 3 白色粉末; $C_{11}H_{16}N_2O_6$; EI-MS m/z : 273 $[M + K]^+$, $C_{11}H_{16}KN_2O_6^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.40 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 5.60 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 4.86 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-1'), 4.68 (1H, m, H-2'), 3.94 (1H, dd, $J = 3.9, 1.8$ Hz, H-6'a), 3.92 (1H, m, H-4'), 3.82 (1H, dd, $J = 6.6, 4.0$ Hz, H-5'a), 3.76 (1H, m, H-5'b), 3.66 (1H, m, H-3'), 3.48 (1H, m, H-6'b), 1.15 (3H, t, $J = 1.21$ Hz, H-7'); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 167.5 (C-4), 153.7 (C-2), 143.7 (C-6), 109.4 (C-5), 101.9 (C-1'), 85.2 (C-4'), 83.8 (C-3'), 78.7 (C-2'), 64.4 (C-6'), 62.1 (C-5'), 15.6 (C-7')。以上数据与文献^[5]报道一致,因此确定化合物 **3** 为 O'-ethyl-1- β -D-arabinofuranosyluracil (图 2)。

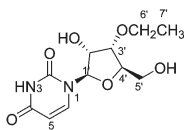


图 2 化合物 **3** 的结构

Fig. 2 Chemical structure of **3**

化合物 4 白色粉末; $C_{10}H_{13}N_5O_4$; EI-MS m/z : 268 $[M + H]^+$, $C_{10}H_{14}N_5O_4^+$; 1H NMR (600 MHz,

C_5D_5N) δ_H : 8.74 (1H, s, H-2), 8.64 (1H, s, H-8), 8.52 (2H, brs, NH_2), 6.76 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 5.52 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, H-2'), 5.09 (1H, t, H-3'), 4.80 (1H, brs, H-4'), 4.33 (1H, dd, $J = 12.4, 4.8$ Hz, H-5'a), 4.16 (1H, dd, $J = 4.8, 12.4$ Hz, H-5'b); ^{13}C NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ_C : 158.2 (C-6), 153.8 (C-2), 150.5 (C-4), 141.1 (C-8), 121.9 (C-5), 91.3 (C-1'), 88.3 (C-4'), 76.1 (C-2'), 72.9 (C-3'), 63.5 (C-5')。以上数据与文献^[6]报道一致,因此确定化合物 **4** 鉴定为腺嘌呤核苷 (adenosine)。

化合物 5 白色粉末; $C_{11}H_{15}N_5O_5$; EI-MS m/z : 296 $[M-H]^+$, $C_{11}H_{14}N_5O_5^+$; 1H NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ_H : 8.77 (1H, s, H-2), 8.64 (1H, s, H-8), 8.52 (2H, brs, NH_2), 5.53 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3'), 5.09 (1H, m, H-4'), 4.80 (2H, m, H-1'), 4.33 (1H, m, H-5'), 4.16 (2H, m, H-6'); ^{13}C NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ_C : 158.2 (C-6), 153.8 (C-2), 150.3 (C-4), 141.1 (C-8), 121.9 (C-5), 91.3 (C-2'), 88.1 (C-5'), 76.1 (C-3'), 72.9 (C-4'), 65.3 (C-6'), 63.5 (C-1')。以上数据与文献^[7,8]报道一致,因此化合物 **5** 鉴定为阿洛酮糖腺苷 (psicofuranine)。

化合物 6 白色粉末; $C_8H_{16}O_6$; ESI-MS m/z : 231 $[M + Na]^+$, $C_8H_{16}NaO_6^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3COCD_3) δ_H : 4.40 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-3), 3.99 (2H, m, H-4, 5), 3.73 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6a), 3.58 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6b), 3.66 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-1a), 3.56 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-1b), 3.62 ~ 3.74 (2H, overlapped, H-1'), 1.09 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2'); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3COCD_3) δ_C : 104.8 (C-2), 83.7 (C-5), 79.0 (C-3), 77.5 (C-1), 64.5 (C-4), 62.2 (C-6), 57.1 (C-1'), 16.0 (C-2')。以上数据与文献^[9]报道一致,因此化合物 **6** 鉴定为 ethyl- β -D-fructofuranoside。

化合物 7 白色粉末; $C_{10}H_{14}N_2O_7$; EI-MS m/z : 275 $[M + H]^+$, $C_{10}H_{15}N_2O_7^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.94 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.60 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 4.09 (1H, m, H-3'), 4.08 (1H, m, H-4'), 3.91 (1H, $J = 4.9$ Hz, H-5'), 3.78 (1H, m, H-1'b), 3.63 (1H, dd, $J = 12.2, 3.0$ Hz, H-1'a), 3.58 (1H, m, H-6'b), 3.48 (1H, dd, $J = 11.2, 4.9$ Hz, H-6'a); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 166.4 (C-4), 152.6 (C-2), 142.8 (C-6), 102.8 (C-5), 90.7 (C-2'), 86.5 (C-5'), 75.9 (C-3'), 71.4 (C-4'), 64.5

(C-1'), 62.4 (C-6')。上述数据与文献报道的 1-(β -D-psicofuranosyl)uracil^[10] 基本一致, 故化合物 **7** 为 1- β -D-Psicofuranosyluracil (图 3)。

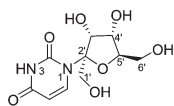


图 3 化合物 **7** 的结构

Fig. 3 Chemical structure of **7**

化合物 8 白色粉末; $C_9H_{12}N_2O_6$; EI-MS m/z : 267 $[M + Na]^+$, $C_9H_{12}NaN_2O_6^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 8.02 (1H, d, $J = 8.2$, H-6), 5.91 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-1'), 5.70 (1H, d, $J = 8.2$, H-5), 4.17 (1H, m, H-2'), 4.14 (1H, m, H-3'), 4.00 (1H, m, H-4'), 3.83 (1H, m, H-5'a), 3.72 (1H, m, H-5'b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 166.4 (C-4), 152.6 (C-2), 142.8 (C-6), 102.8 (C-5), 90.7 (C-1'), 86.5 (C-3'), 75.9 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.4 (C-5')。上述数据与文献报道的尿嘧啶核苷 (uridine)^[11] 一致, 故化合物 **8** 鉴定为尿嘧啶核苷 (uridine)。

致谢: 以上实验均由国家自然科学基金项目 (马槟榔甜水效应的分子机制, No. 31260399; 基于鲜味受体 T1R1/T1R3 茶褐牛肝菌呈鲜的分子机制研究, No. 31460430; 牛肝菌未知鲜味肽及其分子机制, No. 31660437) 支持, 所有光谱数据均由中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室分析测试中心测定。

参考文献

- Wu ZY (吴征镒), Zhuang X (庄璇), Su ZY (苏志云), et al. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press, 1999. 32, 484-527.
- Yu XD (于旭东), Wu FH (吴繁花), Zhang C (张超), et al. Morphology of the flower and fruit and seed of *Capparis Masaikai* Lévl., an indigenous sweet-protein producing plant in China. *Chin J Trop Crop* (热带作物学报), 2009, 30: 463-466.
- Somei M, Tanimoto A, Orita H, et al. Syntheses of Wasabi phytoalexin (methyl 1-methoxyindole-3-carboxylate) and its 5-iododerivative, and their nucleophilic substitution reactions. *Heterocycles*, 2001, 54: 425-432.
- Hu Z (胡忠), Liang L (梁丽), He M (何敏). Isolation and identification of oxazolidine-2-thione in the seeds of *Capparis masaikai*. *Acta Botan Yunnanica* (云南植物研究), 1987, 9: 113-115.
- Darzynkiewicz E, Shugar D. Preparation and properties of O'-methyl and O'-ethyl derivatives of 1 β -D-arabinofuranosyleytosine and 1- β -D-arabinofurano-syluracil. *Acta Biochimica Pol*, 1974, 21: 305-322.
- Yang SL, Liu XK. Nucleosides from *Smilacina a tropurpurea*. *Chin J Nat Meds*, 2003, 1: 196-198.
- Grouiller A, Chattopadhyaya J. Synthesis of D-psico- and D-fructofuranosyl nucleosides. *Acta Chem Scand*, 1984, B38: 367-373.
- Huang Y (黄悦), Dong ZJ (董泽军), Liu JK (刘吉开). The chemical constituents from Basidiocarps of *Sarcodon aspratium*. *Acta Botan Yunnanica* (云南植物研究), 2001, 23: 125-128.
- Zhang Z, Wang D, Zhao Y, et al. Fructose-derived carbohydrates from *Alisma orientalis*. *Nat Prod Res*, 2009, 23: 1013-1020.
- Mahmood K, Vasella A, Bernet B. Deoxy nitrosugars. 17. Synthesis of ketose-derived nucleosides from 1-deoxy-1-nitroribose. *Helv Chim Acta*, 1991, 74: 1555-1584.
- Sang S, Kikuzaki H, Lapsley K, et al. Sphingolipid and other constituents from almond nuts (*Prunus amygdalus* Batsch). *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 4709-4712.