

• 化学 •

香附酸的化学结构

许洪波, 耿长安, 张雪梅, 马云保, 黄晓燕, 陈纪军*

(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, 云南 昆明 650201)

[摘要] 对香附 *Cyperus rotundus* 化学成分进行研究, 采用多种色谱技术(硅胶、氧化铝、Sephadex LH-20、MCI gel CHP-20P、HPLC等)分离纯化, 根据波谱学数据(IR, MS, 1D-2D-NMR)进行结构鉴定。从香附中分离得到13个化合物, 其中包括3个倍半萜, 3个三萜, 4个酰胺, 1个木脂素及2个其他类化合物。它们的结构被分别鉴定为香附酸(**1**) (4*S*, 5*E*, 10*R*)-7-oxo-trinoreudesm-5-en-4β-ol(**2**), 4, 7-二甲基-4-羟基-1-四氢萘酮(**3**), 蒲公英萜酮(**4**), 达玛二烯醇乙酸酯(**5**), 泽屋萜(**6**), 假蒟亭碱(**7**), 几内亚胡椒酰胺(**8**), 墙草碱(**9**), 己内酰胺(**10**), 鹅掌楸苦素(**11**), 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3, 5-dimethoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(*E*)-propenyl)-2, 6-dimethoxyphenoxy]propyl-β-D-glucopyranoside(**12**)和1-(3, 4-methylenedioxyphenyl)-1*E*-tetradecene(**13**)。其中, 化合物**1**为一个新的链状倍半萜类化合物, 其化学结构为6-甲基-2-异丙烯基-7, 10-二氧代十一酸, 命名为香附酸; 化合物**2**和**3**为2个降倍半萜类化合物。化合物**2**~**13**均为首次从该属植物中分离得到, 该研究丰富了香附的化学成分种类。

[关键词] 香附; 香附酸; 倍半萜; 酰胺

Chemical structure of cyperotundic acid from rhizomes of *Cyperus rotundus*

XU Hong-bo, GENG Chang-an, ZHANG Xue-mei, MA Yun-bao, HUANG Xiao-yan, CHEN Ji-jun*
(State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

[Abstract] Thirteen compounds were isolated from the ethyl acetate extract of the rhizomes of *Cyperus rotundus* (Xiangfu) by means of various chromatographic techniques (silica gel, Al₂O₃, Sephadex LH-20, MCI GEL CHP-20P and HPLC), and their structures were identified as cyperotundic acid (**1**) (4*S*, 5*E*, 10*R*)-7-oxo-trinoreudesm-5-en-4β-ol (**2**), 4-hydroxy-4, 7-dimethyl-1-tetralone (**3**), taraxerone (**4**), dammaradienyl acetate (**5**), zeorin (**6**), sarmentine (**7**), guineensine (**8**), pellitorine (**9**), caprolactam (**10**), lirioidendrin (**11**), 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3, 5-dimethoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(*E*)-propenyl)-2, 6-dimethoxyphenoxy]propyl-β-D-glucopyranoside (**12**) and 1-(3, 4-methylenedioxyphenyl)-1*E*-tetradecene (**13**) by extensive spectroscopic analyses (IR, MS, 1D- and 2D-NMR). Compound **1** was a new rearranged sesquiterpene and named as cyperotundic acid, which did not obey the isoprene rule. Compounds **2-13** were obtained from the genus *Cyperus* for the first time.

[Key words] *Cyperus rotundus*; cyperotundic acid; sesquiterpene; amide

doi: 10.4268/cjcm20160615

香附 *Cyperus Rhizoma* 为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎, 始载于南北朝时期陶弘景

的《名医别录》, 为1963—2010年版的《中国药典》所收载。中药香附性平, 味辛、微苦、甘, 具有疏肝解

[收稿日期] 2015-12-07

[基金项目] 中国科学院百人计划; 中国科学院青年创新促进会资助项目

[通信作者] * 陈纪军, Tel/Fax: (0871) 65223265/65227197, E-mail: chenjj@mail.kib.ac.cn

• 1066 •

郁, 调经止痛之功效^[1]。国外学者在 20 世纪二三十年代即对香附的化学成分进行了研究^[2-4], 迄今, 共从中分离鉴定了 100 多个化合物, 主要包括萜类(单萜、倍半萜、三萜), 黄酮, 生物碱等^[5]。现代药理研究表明其具有抗菌、镇痛、抗肿瘤、抑制乙酰胆碱酯酶、抗糖尿病及雌激素样作用等活性^[5-6]。本课题组利用 HepG 2. 2. 15 细胞模型对香附进行了体外抗 HBV 活性研究, 发现香附的 90% 和 50% 乙醇提取部位具有较强的抑制 HBV DNA 复制活性, 为了阐明其活性物质, 我们前期从其活性部位分离得到 37 个倍半萜类成分, 特别是 9 个桉烷型倍半萜对 HBV DNA 的复制具有较好的抑制作用^[7]。

为丰富香附的化学成分, 本研究进一步对香附的乙酸乙酯萃取部位进行系统的化学成分研究, 从中分离鉴定了 13 个化合物, 其中化合物 1 为一个新的链状倍半萜, 其余已知化合物(2~13)均为首次从莎草属中分离得到。

1 材料

高分辨质谱用 IT-TOF-LC-MS(Shimadzu, Kyoto, Japan) 质谱仪测定, 熔点通过 SGWX-4B 显微熔点仪(上海精密科学仪器有限公司)测定。核磁共振谱用 Bruker AM-400, DRX-500 或 Bruker Avance III-600 型超导核磁共振仪(Bruker, Bremerhaven, Germany)测定, TMS(四甲基硅烷)作内标; 红外光谱用 Bio-Rad FTS-135 型红外光谱仪测定(Bio-Rad, Hercules, California, USA); 旋光通过 Jasco model 1020 旋光仪(Horiba, Tokyo, Japan)测定; 高效液相为 Waters Alliance 2695(Waters, USA), 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A(20 mm × 250 mm, 10 μm), 中压液相(Dr Flash-II)为上海利穗产品。薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶(200~300 目)分别购自青岛海洋化工有限公司和青岛美高集团有限公司; MCI CHP-20P gel 柱色谱分离材料购自日本三菱化学公司; Sephadex LH-20 来自 Pharmacia 公司。分析纯甲醇购自江苏汉邦科技有限公司; 显色剂为 H₂SO₄(10%)的乙醇溶液; 所用其他试剂均为化学纯或分析纯。

香附于 2011 年 4 月购自云南省昆明市菊花村药材市场, 经中国科学院昆明植物研究所雷立公副研究员鉴定为香附 *Cyperi Rhizoma*, 标本存放于中国科学院昆明植物研究所抗病毒与天然药物化学研究组(No. 2011041101)。

2 提取与分离

香附(5 kg)粉碎后分别用 90% 和 50% 乙醇室温下浸泡 2 次, 每次浸泡 72 h。合并各浸泡液, 减压浓缩至干; 残留物混悬于 2 L 水中, 用等量乙酸乙酯萃取 4 次, 回收乙酸乙酯萃取液得乙酸乙酯部分(305 g)。乙酸乙酯部分经硅胶柱色谱(2 000 g, 17.5 mm × 35 cm), 用丙酮-石油醚(0:100~100:0)梯度洗脱, 经 TLC 检查并合并相同流分后得到 9 个组分(Frs. E-1~E-9)。

Fr. E-3(22 g)经硅胶柱色谱(400 g, 8 cm × 30 cm), 乙酸乙酯-石油醚(5:95)洗脱, 得到 2 个组分(Fr. E-3-1 和 Fr. E-3-2)。Fr. E-3-1(3.4 g)经氧化铝柱色谱(60 g, 2 cm × 50 cm), 丙酮-石油醚(3:97)洗脱, 得到 2 个组分(Fr. E-3-1-1 和 Fr. E-3-1-2)。Fr. E-3-1-1(2.3 g)经氧化铝柱色谱(40 g, 1.5 cm × 40 cm), 用甲醇-氯仿(1:99)洗脱, 得到化合物 4(77 mg) 5(45 mg) 和 13(10 mg)。Fr. E-3-1-2(800 mg)经 Sephadex LH-20 柱色谱(50 g, 1.4 cm × 150 cm), 用甲醇-氯仿(50:50)洗脱得到化合物 6(10 mg) 和 8(5 mg)。Fr. E-3-2(17.6 g)经氧化铝柱色谱分离(300 g, 4 cm × 28 cm), 丙酮-石油醚(5:95)洗脱, 得到 2 个流分(Fr. E-3-2-1 和 Fr. E-3-2-2)。E-3-2-2(11 g)经硅胶柱色谱(150 g, 2.5 cm × 50 cm), 用乙酸乙酯-石油醚(20:80~100:0)洗脱后, 再经 Sephadex LH-20(50 g, 1.4 × 150 cm)纯化得到化合物 2(40 mg) 3(18 mg) 7(15 mg) 和 9(3 mg)。

Fr. E-8(11 g)经中压制备液相(MCI GEL CHP-20P, 75~150 μm, 168 g, 2.54 cm × 50 cm), 甲醇-水(10:90~100:0)梯度洗脱, 得到 5 个组分(Frs. E-8-1~E-8-5)。

Fr. E-8-1(3.6 g)经硅胶柱色谱(60 g, 3.1 cm × 50 cm)用水-甲醇-氯仿(2.5:25:75~3:30:70)洗脱, 再经 HPLC(YMC-C₁₈, 9.4 mm × 250 mm, 5 μm)纯化, 乙腈-水(12:88)洗脱, 得到化合物 1(9 mg)。Fr. E-8-2(2 g)经氧化铝柱色谱(50 g, 2 cm × 50 cm), 水-甲醇-乙酸乙酯(2:25:75)洗脱, 再经 Sephadex LH-20(50 g, 1.4 cm × 150 cm, 甲醇)纯化后得化合物 10(7 mg)。Fr. E-8-3(2.1 g)经硅胶柱色谱(50 g, 2.5 cm × 40 cm), 水-甲醇-氯仿(2.5:25:75~3:30:70)洗脱后再经 HPLC 制备(YMC-Pack ODS-A, 10 μm, 20 mm × 250 mm, 3.5 mL · min⁻¹), 甲醇-水(25:75)为流动相, 得化合物 11(7

mg) 和化合物 **12** (4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 油状物。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 267.1597 $[M-H]^-$ (计算值 267.1602), 可推测其分子式为 $C_{15}H_{24}O_4$, 不饱和度为 4。红外光谱 (KBr) 显示其结构中含有羟基 (3441 cm^{-1}), 羰基 (1711 cm^{-1}) 和双键 (1633 cm^{-1}) 等基团。 $^1\text{H-NMR}$ 中: δ_{H} 2.19 (3H, s), 1.65 (3H, s) 和 1.08 (3H, d, $J=6.8\text{ Hz}$) 提示结构中有 3 个甲基; $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT) 谱显示 15 个碳信号, 包括 4 个季碳 2 个次甲基 6 个亚甲基 3 个甲基见表 1。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中的 δ_{C} (213.0 207.4) 提示结构中有 2 个羰基; δ_{C} 177.8 (s) 提示结构中具有 1 个羧基。此外, $^{13}\text{C-NMR}$ 中 δ_{C} 145.3 (s), 112.7 (t) 和 18.5 (q) 提示结构中有 1 个异丙烯基。 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ 中 δ_{H} 2.69 (2H, t, $J=6.5\text{ Hz}$, H-8) / 2.67 (2H, t, $J=6.5\text{ Hz}$, H-9) 的相关表明结构中具有片段 A (图 1); δ_{H} 2.54 (1H, t, $J=6.7\text{ Hz}$, H-2) / 2.39 (2H, dt, $J=6.7, 6.2\text{ Hz}$, H-3) / 1.58 (1H, m, H-4a) / 1.35 (1H, m, H-5b) / 2.54 (1H, m, H-6) / 1.08 (3H, d, $J=6.8\text{ Hz}$, H-15) 存在相关, 提示结构中具有 1 个片段 B, 见图 1。在 HM-BC 谱中, 见图 1 δ_{H} 1.08 (3H, d, $J=6.8\text{ Hz}$, H-15) 与 δ_{C} 213.0 (s, C-7) 的相关, 以及 δ_{H} 2.69 (2H, t, $J=6.5\text{ Hz}$, H-8) 与 δ_{C} 207.4 (s, C-10) 的相关可以推测 2 个羰基分别处于 C-7 和 C-10 位; δ_{H} 1.65 (3H, s, H-14) 与 δ_{C} 43.3 (d, C-2) 及 δ_{C} 112.7 (t, C-13) 存在相关, δ_{H} 2.39 (2H, dt, $J=6.7, 6.2\text{ Hz}$, H-3) 与 δ_{C} 145.3 (s, C-12) 存在相关, 可以推测异丙烯基连接在 C-2 位。至此, 化合物 **1** 的平面结构可以确定为: 6-甲基-2-异丙烯基-7,10-二氧代十一酸, 命名为香附酸见图 1。遗憾的是现有数据无法确定 C-2

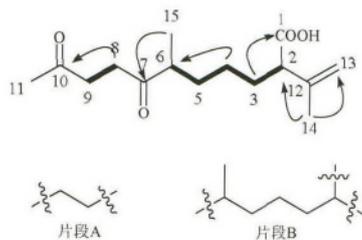
和 C-6 的构型; 因此, 该化合物的立体构型问题仍有待解决。该化合物是 1 个新的链状倍半萜类化合物, 且不符合异戊二烯规则, 作者推测其结构可能源自 anthoplaone 型倍半萜^[8], 见图 1。Anthoplaone 型倍半萜最早于 1990 年被日本学者从太平洋侧花海葵 (*Anthopleura pacifica* Uchida) 中发现, 该类化合物亦不服从异戊二烯规则, 且结构中有 1 个三元环。日本学者推测该类化合物是由 lepidozene 型倍半萜经过开环、氧化后所形成^[8]。本文报道的化合物 **1** 可能由 anthoplaone 型倍半萜的三元环开环、氧化而来, 这也是首次从高等植物中发现该类型倍半萜类化合物。

表 1 化合物 **1** 的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据

Table 1 The $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data of compound **1**

NO.	1 ¹⁾	
	δ_{H}	δ_{C}
1		177.8 s
2	2.54 ²⁾ t (6.7)	43.3 d
3	2.39 dt (6.7, 6.2)	38.8 t
4	1.58 ²⁾ m 1.29 m	30.2 t
5	1.58 ²⁾ m 1.35 m	30.1 t
6	2.54 ²⁾ m	45.9 d
7		213.0 s
8	2.69 t (6.5)	34.5 t
9	2.67 t (6.5)	36.8 t
10		207.4 s
11	2.19 s	30.0 t
12		145.3 s
13	4.80 d (1.8) 4.77 d (1.8)	112.7 t
14	1.65 s	18.5 q
15	1.08 d (6.8)	16.1 q

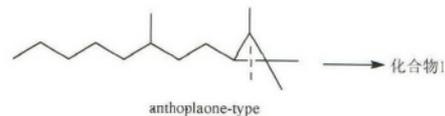
注: ¹⁾ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz); ²⁾ 信号重叠。



→ HMBC; — $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$.

图 1 化合物 **1** 主要的 HMBC 和 COSY 相关信号

Fig. 1 Structure and the key HMBC and COSY correlations of compound **1**



化合物 **1** 油状物。 $[\alpha]_D^{24} - 12.5$ (c 0.1 , MeOH) ; IR (KBr) ν_{\max} : 3 441 , 1 711 , 1 633 cm^{-1} 。 HR-ESI-MS m/z 267. 159 7 (计算值 267. 160 2) $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。 ^1H 和 ^{13}C -NMR 数据见表 1 。

其余化合物(**2** ~ **13**) 的结构均通过与文献报道的波谱数据比较 , 分别鉴定为: (*4S, 5E, 10R*) γ -oxo-tri-nor-eudesm-5-en-4 β -ol(**2**)^[9] , 4-hydroxy-4, 7-dimethyl-1-tetralone (**3**)^[10] , 蒲公英萜酮 (taraxerone , **4**)^[11] , 达玛二烯醇乙酸酯 (dammaradienyl acetate , **5**)^[12] , 泽屋萜 (zeorin , **6**)^[13] , 假蒟蒾碱 (sarmentine , **7**)^[14] , 几内亚胡椒酰胺 (guineensine , **8**)^[15] , 墙草碱 (pellitorin , **9**)^[16] , 己内酰胺 (caprolactam , **10**)^[17] , 鹅掌楸苦素 (liriodendrin , **11**)^[18] , 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3, 5-dimethoxyphenyl)-2-[4-(3-hydroxy-1-(*E*)-propenyl)-2, -dimethoxyphenoxy] propyl- β -D-glucopyranoside (**12**)^[19] , 1-(3, 4-methylenedioxyphenyl)-1*E*-tetradecene(**13**)^[14] 。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 241.
- [2] Rao B S , Panicker P B , Sudborough J J. Essential oil of *Cyperus rotundus* [J]. J Indian Inst Sci , 1925 , 8A: 39.
- [3] Hegde B J , Rao B S. Essential oil from the rhizomes of *Cyperus rotundus* , Linn [J]. J Soc Chem Ind(London) , 1935 , 54: 387.
- [4] Bradfield A E , Hedge B H , Rao B S , et al. Alpha-cyperone , a sesquiterpene ketone from the oil of *Cyperus rotundus* [J]. J Chem Soc , doi: 10. 1039/JR9360000667.
- [5] 徐燕 , 李大祥 , 凌铁军 , 等. 香附化学成分研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志 , 2010 , 16(11) : 214.
- [6] 黄险峰 , 彭国平. 香附的化学成分及药理研究进展 [J]. 中药材 2003 26(1) : 65.
- [7] Xu H B , Ma Y B , Huang X Y , et al. Bioactivity-guided isolation of anti-hepatitis B virus active sesquiterpenoids from the traditional Chinese medicine: rhizomes of *Cyperus rotundus* [J]. J Ethnopharmacol , 2015 , 171: 131.
- [8] Guo-Chi Z , Hatano M , Ishitsuka M O , et al. Novel seco-and seconorsesquiterpenes having a cyclopropane ring from the okinawan actinia *Anthopleura pacifica* Uchida [J]. Tetrahedron Lett , 1990 , 31(18) : 2617.
- [9] Cheng S Y , Wang S , Wen Z H , et al. Three new eudesmanoids from the Formosan soft coral *Nephthea erecta* [J]. J Asian Nat Prod Res , 2009 , 11(11) : 967.
- [10] Mulholland D A , Mcfarland K , Randrianarivelojosia M. Sesquiterpenoid derivatives from *Cipadessa boiviniana* (Meliaceae) [J]. Biochem Syst Ecol , 2006 , 34(4) : 365.
- [11] 周忠玉 , 王立松 , 王飞 , 等. 绿槽枝衣的化学成分 [J]. 云南植物研究 , 2007 , 29(5) : 586.
- [12] Grande M , Torres P , Pira F , et al. Triterpenoids from *Dittrichia viscosa* [J]. Phytochemistry , 1992 , 31(5) : 1826.
- [13] Feng J , Yang X W , Su S D , et al. Studies on chemical constituents from herbs of *Usnea longissima* [J]. China J Chin Mate Med , 2009 , 34(6) : 708.
- [14] Likhitwitayawuid K , Ruangrunsi N , Lange G L , et al. Structural elucidation and synthesis of new components isolated from *Piper sarmentosum* (Piperaceae) [J]. Tetrahedron , 1987 , 43(16) : 3689.
- [15] Lee S A , Hwang J S , Han X H , et al. Methylpiperate derivatives from *Piper longum* and their inhibition of monoamine oxidase [J]. Arch Pharmacol Res , 2008 , 31(6) : 679.
- [16] Leitão-Cunha E V , Oliveira-Chaves M C. Two amides from *Piper tuberculatum* fruits [J]. Fitoterapia , 2001 , 72(2) : 197.
- [17] 刘丽娟 , 周小平 , 王广树 , 等. 分蘖葱头中含氮化合物的分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志 , 2009 , 19(5) : 368.
- [18] 华会明 , 李铎 , 邢素娥 , 等. 柳穿鱼化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志 , 2005 , 40(9) : 653.
- [19] Takara K , Matsui D , Wada K , et al. New antioxidative phenolic glycosides isolated from Kokuto non-centrifuged cane sugar [J]. Biosci Biotechnol Biochem , 2002 , 66(1) : 29.

[责任编辑 丁广治]