

狗牙根全草的化学成分分离鉴定

顾爱彤¹, 李碧君¹, 张卿¹, 王峰^{1,2*}

(1. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006;

2. 国家中医药管理局 中药数字化质量评价技术重点实验室, 广州 510006)

[摘要] **目的:**研究狗牙根 *Cynodon dactylon* 全草的化学成分,丰富狗牙根的化学成分,为狗牙根后续深入研究奠定基础。**方法:**取狗牙根的干燥全草(20 kg),用95%乙醇加热回流提取3次,合并提取液通过减压浓缩成浸膏。将浸膏用水溶解分散,依次用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇3种不同极性的溶剂萃取,减压回收溶剂,得石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水4个不同极性部分的浸膏。采用各种分离技术(包括正向硅胶,反向 RP-18,反向小孔树脂(MCI)柱色谱,LH-20 羟醛葡聚糖凝胶(sephadex LH-20),制备薄层色谱和制备 HPLC 等),对狗牙根乙酸乙酯萃取部位的化学成分进行分离纯化,根据理化性质和波谱分析(1D和2D NMR,UV,MS,CD,ORD)对分离得到的化合物进行结构鉴定。**结果:**从狗牙根95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位中得到8个化合物,分别鉴定为7-oxoarctigenin(1),香草乙酮(2),对羟基苯甲酸(3),(4-hydroxy-3,5-diethoxyphenyl)(3-hydroxy-4-methoxy-phenyl) methanone(4),邻羟基苯甲酸(5),丁香脂素(6),(5S,6S)-5,6-dihydro-3,8,10-trihydroxy-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-hydroxymethyl-2,4-dimethoxy-7H-benzo[*c*]xanthen-7-one(7),木犀草素(8)。**结论:**该研究从狗牙根全草中分离得到的化合物1~8均为首次从该属植物中分离得到。

[关键词] 狗牙根; 化学成分; 木脂素

[中图分类号] R284.2;R2-031;R282.6;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)14-0048-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181415

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180426.1134.003.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 15:30

Chemical Constituents of Whole Plant of *Cynodon dactylon*

GU Ai-tong¹, LI Bi-jun¹, ZHANG Qing¹, WANG Feng^{1,2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of SATCM, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To separate and identify chemical constituents from *Cynodon dactylon* which lay a foundation for further research on the effective material of the plant. **Method:** The dried grass of *C. dactylon* (20 kg) was extracted with 95% EtOH as the crude extract, and then suspended in water followed by extraction with petroleum ether, EtOAc and nBuOH to acquire four soluble extract successively. The compounds were isolated from the EtOAc extract (150 g) by successive chromatographic procedures (silica gel, RP-18, MCI, Sephadex LH-20, and Semi-preparative HPLC). Their structures were identified by physical and chemical properties and spectral data (1D NMR, 2D NMR, UV, MS, CD, ORD). **Result:** Eight compounds were separated from *C. dactylon* and their structures were examined by spectral data and identified as 7-oxoarctigenin (1), together with seven known compounds acetovanillone (2), 4-hydroxybenzoic acid (3), (4-Hydroxy-3,5-diethoxyphenyl)(3-hydroxy-4-methoxy-phenyl) methanone (4), 2-hydroxybenzoic acid (5), syringaresinol

[收稿日期] 20171023(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202884)

[第一作者] 顾爱彤,在读硕士,从事分析化学研究,E-mail:1813913673@qq.com

[通信作者] *王峰,博士,副教授,从事中药药效物质基础研究,E-mail:wfeng1230@163.com

(6), (5*S*, 6*S*)-5, 6-dihydro-3, 8, 10-trihydroxy-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-hydroxy-ymethyl-2, 4-dimethoxy-7*H*-benzo [c] xanthen-7-one) (7), and lunteolin (8). **Conclusion:** Compound 1-8 were isolated from *C. dactylon* for the first time.

[**Key words**] *Cynodon dactylon*; chemical constituents; lignans

狗牙根为禾本科狗牙根属植物的全草,广泛分布于热带、亚热带地区,在我国主要分布于黄河流域以南的地区及华南、四川、新疆、西北、贵州等广大地区^[1]。性味苦微甘、平,有解热利尿、舒筋活血、化痰、止血、解毒等功效,用于风寒湿痹、关节疼痛、便血、疮疡肿毒^[2]等证。狗牙根在民间被用于治疗各种心血管疾病,如心脏衰竭和动脉粥样硬化、惊厥、癫痫、溃疡^[3]等。目前国内对该植物研究甚少。据已有文献报道,狗牙根属植物中主要含有黄酮类、萜类、生物碱、酚酸类化学成分^[4-5],为丰富狗牙根全草的化学成分,本实验对狗牙根的乙酸乙酯部位进行进一步的研究。从狗牙根 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位中得到 8 个首次分离的化合物,分别鉴定为 7-oxoarctigenin (1), 香草乙酮 (2), 对羟基苯甲酸 (3), (4-hydroxy-3, 5-diethoxyphenyl) (3-hydroxy-4-methoxy-phenyl) methanone (4), 邻羟基苯甲酸 (5), 丁香脂素 (6), (5*S*, 6*S*)-5, 6-dihydro-3, 8, 10-trihydroxy-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-hydroxy-ymethyl-2, 4-dimethoxy-7*H*-benzo [c] xanthen-7-one (7), 木犀草素 (8)。

1 材料

AVANCE-500 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); LC-20A 型高效液相色谱仪, CBM-20A 型半制备液相色谱仪(日本岛津公司); ZWF-6 型紫外灯(上海金达生化仪器有限公司); MP200 型中压快速纯化制备色谱仪(天津博纳艾杰尔科技有限公司)。GF₂₅₄ 预制薄层色谱硅胶板(10~40 μm, 安徽良臣硅源材料有限公司产品), 柱色谱硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂), RP-18 反相硅胶(40~60 μm, 德国 Merck 公司), 小孔树脂(MCI, CHP-20P gel, 日本三菱化学公司), LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, 25~100 μm, 美国 GE Healthcare 公司)。甲醇、乙腈(色谱纯, 广州华鑫试剂公司), 其他试剂均为分析纯。

狗牙根药材于 2015 年 6 月购买于安徽亳州中药材市场, 经广东药学院中药学院陈磊副教授鉴定为禾本科植物狗牙根 *Cynodon dactylon* 的干燥全草, 标本(编号 CD20150601)保存于广东药科大学中药学院。

2 提取分离

取狗牙根的干燥全草(20 kg), 用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 合并提取液减压浓缩成浸膏。浸膏用水溶解分散, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇 3 种不同极性的溶剂进行萃取 3 次, 减压回收溶剂, 得石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水 4 个不同极性的部分。乙酸乙酯部位浸膏约 150 g, 经硅胶柱, 二氯甲烷-丙酮(100:0~0:100)梯度洗脱, 得到 5 个部分(A~E)。组分 A 浸膏 12.76 g, 经反向 MCI 柱色谱(甲醇-水 50:50~100:0)梯度洗脱, 得到 6 个亚组分(A1~A6), A1 经 Sephadex LH-20(甲醇洗脱), 半制备 HPLC(甲醇-水 35:65)得化合物 2(7.5 mg)。组分 C 浸膏 20 g, 经反向 MCI 柱色谱(甲醇-水 30:70~100:0)梯度洗脱, 得到 5 个亚组分(C1~C5), C2 经 Sephadex LH-20(甲醇洗脱)纯化分离得 3 个组分(C2.1~C2.3), 其中 C2.3 经半制备 HPLC(乙腈-水 15:85)得到化合物 3(80.7 mg), 4(6.8 mg)。C3 经 Sephadex LH-20(纯甲醇洗脱)纯化分离得 4 个组分(C3.1~C3.4), 其中 C3.2 经 Sephadex LH-20(纯甲醇洗脱)和半制备 HPLC(甲醇-水 45:55)得到化合物 5(1.0 mg)。C5 经 Sephadex LH-20(丙酮洗脱)纯化分离得 2 个组分(C5.1~C5.2), C5.1 再经半制备 HPLC(甲醇-水 50:50)得化合物 1(5.0 mg)。组分 D 浸膏 42.23 g, 经反向 MCI 柱色谱(甲醇-水 30:70~100:0)梯度洗脱, 得到 3 个亚组分(D1~D4), D3 经 Sephadex LH-20(纯甲醇洗脱)纯化分离得 6 个组分(C6.1~C6.6), D6.2 先行制备薄层色谱(三氯甲烷-异丙醇, 8:1), 再行半制备 HPLC(甲醇-水 43:57)得到化合物 6(3.1 mg); D6.4 经半制备 HPLC(甲醇-水 45:55)得到化合物 7(6.0 mg); D6.6 经半制备 HPLC(乙腈-水 27:73)得到化合物 8(11.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色无定型粉末, 硫酸-香草醛溶液显色为紫红色斑点。HR-ESI-MS m/z 385.129 73 [M-H]⁻(计算值 385.129 28)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.32 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-6), 7.26 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.91 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 6.64 (1H, br s, H-2'), 6.57 (1H, s, H-

5'), 6.56 (1H, s, H-6'), 4.14 (1H, dd, $J = 8.5$, 17.0 Hz, H-9), 3.90 (3H, s, 4-OCH₃), 3.82 (3H, s, 3-OCH₃), 3.64 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.13 (1H, dd, $J = 8.5$, 17.0 Hz, H-7'b), 2.77 (1H, dd, $J = 8.5$, 14.0 Hz, H-7'a)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 197.9 (C-7), 150.3 (C-3), 147.2 (C-4'), 130.1 (C-1'), 130.1 (C-1), 124.8 (C-6), 123.1 (C-6'), 116.3 (C-5'), 113.9 (C-2'), 111.8 (C-2), 111.6 (C-5), 56.2 (C-3'), 36.2 (C-7')。以上波谱数据与文献[4]报道基本一致,故鉴定化合物**1**为7-oxoartigenin

化合物**2** 淡黄色胶状固体,易溶于甲醇。三氯化铁溶液呈阳性反应。EI-MS m/z 166 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.57 (1H, dd, $J = 8.5$, 2.0 Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 3.90 (3H, s, OCH₃), 2.54 (3H, s, H-2)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 199.6 (C-1), 153.7 (C-4'), 149.2 (C-3'), 130.5 (C-1'), 125.3 (C-6'), 115.9 (C-5'), 112.0 (C-2'), 56.5 (OCH₃), 26.3 (C-2)。以上波谱数据与文献[6]报道基本一致,故鉴定化合物**2**为香草乙酮。

化合物**3** 白色无定型粉末。EI-MS m/z 122 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 9.75 (1H, s, CHO), 7.77 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, 6), 6.91 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, 5)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 191.0 (CHO), 166.2 (C-4), 132.5 (C-2, 6), 128.5 (C-1), 116.0 (C-3, 5)。以上波谱数据与文献[7]报道基本一致,故鉴定化合物**3**为对羟基苯甲醛。

化合物**4** 白色固体。EI-MS m/z 294 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.55 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2), 7.54 (1H, dd, $J = 8.0$, 2.0 Hz, H-6), 7.33 (2H, s, H-2', 6'), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 3.88 (9H, s, 3 \times OCH₃)。 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 168.3 (C-7), 150.7 (C-3), 146.9 (C-3', 5'), 146.7 (C-4), 139.7 (C-4'), 123.3 (C-6), 121.3 (C-1), 120.3 (C-1'), 113.9 (C-5), 111.9 (C-2), 106.4 (C-2', -6'), 54.9 (2 \times OCH₃), 54.5 (OCH₃)。以上波谱数据与文献[8]报道基本一致,故鉴定化合物**4**为(4-hydroxy-3, 5-diethoxyphenyl) (3-hydroxy-4-methoxy-phenyl) methanone。

化合物**5** 白色针晶(甲醇)。EI-MS m/z 138 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.86 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.42 (1H, dd, $J = 8.0$, 7.8 Hz, H-5), 6.89 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 6.87 (1H, dd, $J = 8.0$, 7.8 Hz, H-6)。 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ :

172.1 (C-1), 162.1 (C-3), 136.2 (C-5), 131.7 (C-7), 120.0 (C-6), 118.1 (C-4), 113.2 (C-2)。以上波谱数据与文献[9]报道基本一致,故鉴定化合物**5**为邻羟基苯甲酸。

化合物**6** 无色方晶,硫酸乙醇显色为黄色斑点。EI-MS m/z 418 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.66 (4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.72 (2H, d, $J = 4.5$ Hz, H-7, 7'), 4.26 (2H, dd, $J = 7.0$, 9.0 Hz, H-9a, 9'a), 3.88 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.83 (12H, s, 3, 3', 5, 5'-OCH₃), 3.14 (2H, m, H-8, 8')。 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 149.5 (C-3, 3', 5, 5'), 136.3 (C-4, 4'), 133.2 (C-1, 1'), 104.6 (C-2, 2', 6, 6'), 87.7 (C-7, 7'), 72.9 (C-9, 9'), 56.9 (3, 3', 5, 5'-OCH₃), 55.6 (C-8, 8')。以上波谱数据与文献[10]报道基本一致,故鉴定化合物**6**为丁香脂素。

化合物**7** 黄色无定型粉末,易溶于三氯甲烷,能溶于甲醇,难溶于水,三氯化铁-铁氰化钾反应阳性。EI-MS m/z 508 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.42 (1H, s, H-6'), 6.76 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-15), 6.56 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-18), 6.46 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.32 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-19), 6.16 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.58 (3H, s, 16-OCH₃), 3.53 (1H, m, H-12), 3.21 (1H, m, H-11b), 4.84 (1H, s, H-13), 4.01 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.73 (3H, s, 5'-OCH₃), 3.62 (1H, m, H-11a), 3.21 (1H, m, H-11b)。 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 182.1 (C-4), 166.0 (C-7), 163.3 (C-5), 160.9 (C-2), 158.8 (C-9), 149.8 (C-5'), 149.0 (C-16), 147.8 (C-3'), 146.1 (C-17), 145.6 (C-4'), 136.7 (C-14), 128.8 (C-2'), 120.9 (C-19), 119.3 (C-1'), 116.0 (C-18), 112.6 (C-15), 112.2 (C-3), 105.3 (C-10), 104.0 (C-6'), 100.2 (C-6), 95.1 (C-8), 63.0 (C-11), 61.0 (3'-OCH₃), 57.1 (5'-OCH₃), 56.4 (16-OCH₃) 42.4 (C-12), 37.8 (C-13)。以上波谱数据与文献[11]报道基本一致,故鉴定化合物**7**为(5S, 6S)-5, 6-dihydro-3, 8, 10-trihydroxy-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-hydroxy-ymethyl-2, 4-dimethoxy-7H-benzo[c]xanthen-7-one)。

化合物**8** 黄色粉末,易溶于甲醇,三氯化铁反应为阳性。EI-MS m/z 286 [M]⁺。¹H-NMR (500 MHz, acetone-d₆) δ : 6.99 (1H, d, H-5'), 6.57 (1H, s, H-3), 6.51 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.45 ~ 6.49 (2H, m, H-2', 6'), 6.24 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6)。 ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-d₆) δ : 183.4 (C-4),

165.5 (C-7), 165.3 (C-9), 163.7 (C-5), 159.1 (C-3'), 150.5 (C-2), 146.9 (C-4'), 124.0 (C-1'), 120.4 (C-6'), 116.9 (C-2'), 114.4 (C-5'), 105.6 (C-10), 104.5 (C-3), 100.0 (C-6), 95.0 (C-8)。以上波谱数据与文献[12]报道基本一致,故鉴定化合物 8 为木犀草素。

[参考文献]

[1] 唐欣,向佐湘,苏鹏.狗牙根研究进展[J].作物研究,2009,23(5):383-386.
[2] 国家中医药管理局.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,2005.
[3] CHEN G H,ZONG J,GAO Y,et al. Genetic variation of salinity tolerance in Chinese natural bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) germplasm resources [J]. Acta Agr Scand, B-S P, 2014, 64(5):416-424.
[4] Fischer J, Reynolds A J, Sharp L A, et al. Radical carboxylation approach to lignans. Total synthesis of (-)-arctigenin (Ia), (-)-matairesinol (II a), and related natural products [J]. Chem Inform, 2004, 35(36):1345-1248.
[5] FAN C,ZHU X,ZHAN Z,et al. Lignans from *Saussurea conica* and their NO production suppressing activity[J].

Planta Med, 2006, 72(7):590-595.
[6] LUO J R, MA Q, ZHAO Y X, et al. Palaeophytochemical components from the Miocene-fossil wood of *Pinus griffithii* [J]. J Chin Chem Soc, 2009, 56(3):600-605.
[7] 陈小芳,马国需,黄真,等.傣药肾茶中水溶性酚酸类化学成分的研究[J].中草药,2017,48(13):2614-2618.
[8] Ghinet A, Rigo B, Henichart J, et al. Synthesis and biological evaluation of phenstatin metabolites [J]. Bioorg Med Chem, 2011, 19(20):6042-6054.
[9] 赵森森,俞桂新,王峥涛.华山参化学成分研究[J].中草药,2013,44(8):938-941.
[10] Lee K R, Sungkyunkwan University, Suwon, et al. Lignans from the roots of *Berberis amurensis* [J]. Nat Prod Sci, 2009, 15(1):17-21.
[11] Eva Wenzig, Olaf Kunert, Daneel Ferreira, et al. Flavonolignans from *Avena sativa* [J]. J Nat Prod, 2005, 68(2):289-292.
[12] 李明潺,唐生安,段宏泉.野雉尾金粉蕨化学成分研究[J].中草药,2010,41(5):685-688.

[责任编辑 顾雪竹]