

蒺藜全草中甾体皂苷类化学成分研究^{*}

吴克磊,康利平,熊呈琦,赵 阳,余河水,张 洁,马百平

摘要:[目的] 对蒺藜全草化学成分进行研究。[方法] 采用大孔吸附树脂柱色谱、硅胶柱色谱、ODS 柱色谱及制备高效液相色谱法(PHPLC)对蒺藜 70%乙醇提取液进行分离纯化,并利用理化数据测定和光谱数据分析等方法对所得单体进行了结构鉴定。[结果] 分离鉴定了 5 个甾体皂苷:1)uttoside B;2)polianthoside D;3)替告皂苷元-3-O-β-D-吡喃木糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-[α-L-鼠李糖基(1→2)]-β-D-吡喃半乳糖苷;4)(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-3β,22α,26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-吡喃半乳糖苷;5)海柯皂苷元-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷。[结论] 化合物 1 和 2 为首次从蒺藜中分离获得。

关键词:蒺藜;甾体皂苷;分离纯化;结构鉴定

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1673-9043(2012)04-0225-04

蒺藜是蒺藜科蒺藜属植物蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)的干燥成熟果实,始载于《神农本草经》,《中国药典》2010 年版也收录了此中药。蒺藜中的主要活性成分为甾体皂苷类化合物,目前共报道了 139 种。现代药理研究表明皂苷类化合物具有防治心脑血管疾病^[1],改善学习记忆,调节血糖、抗癌、抗疲劳、性强壮等活性^[2],国内上市的心脑舒通以及国外开发的“Tribustan”、“Vitanone”和“Tribusaponin”等药物均是以蒺藜皂苷为主要活性成分。

为了进一步研究蒺藜中甾体皂苷的组成,笔者对蒺藜全草中甾体皂苷类化合物进行了分离鉴定,得到 5 个单体化合物:1)uttoside B;2)polianthoside D;3)替告皂苷元-3-O-β-D-吡喃木糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-[α-L-鼠李糖基(1→2)]-β-D-吡喃半乳糖苷;4)(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-3β,22α,26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-吡喃半乳糖苷

糖苷;5)海柯皂苷元-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷。其中化合物 1 和 2 为首次从蒺藜中分离得到。结构见图 1。

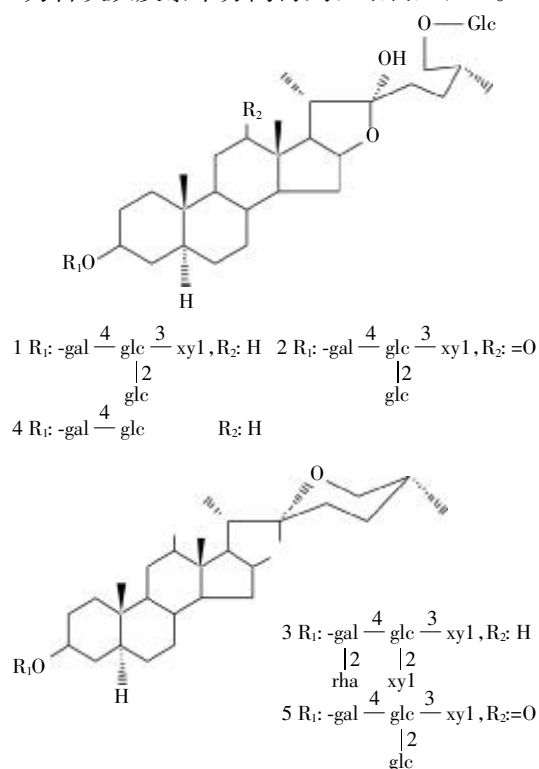


图 1 化合物 1-5 结构

1 材料与仪器

高效液相色谱仪为 Waters 2695 Alliance Separa-

^{*}基金项目:北京市自然科学基金重大项目(7090001)。

作者单位:100850 军事医学科学院放射与辐射医学研究所(吴克磊,康利平,熊呈琦,赵 阳,余河水,张 洁,马百平)
300193 天津中医药大学(吴克磊,康利平,余河水)

作者简介:吴克磊(1986-),男,硕士研究生,主要从事中药活性成分分离纯化及结构鉴定。

通讯作者:马百平。

tions Module, 色谱柱: Megres RP-18 column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 检测器: Alltech ELSD 2000。Synapt MS 质谱仪(美国 Waters)。大孔吸附树脂为 SP825(日本三菱化学公司), ODS-A(120 Å, 50 μm, 日本 YMC 公司), 硅胶 H(青岛海洋化工厂)。分析纯试剂甲醇、乙醇、乙腈、氯仿等有机溶剂(北京化学试剂厂), 色谱纯试剂乙腈(美国 Fisher 公司)。

蒺藜采集于北京市海淀区, 经天津中医药大学张丽娟教授鉴定为 *Tritulus terrestris* L。

2 提取分离

蒺藜全草 20 kg, 70%乙醇(V/V)回流提取物, 经 SP825 大孔吸附树脂柱色谱, 依次用 5%、60%、90%乙醇(V/V)梯度洗脱, 收集 60%、90%乙醇洗脱部分。60%乙醇洗脱部分, 经加压硅胶柱色谱, 氯仿—甲醇—水(15:1:0.01~2:1:0.01)梯度洗脱, 得到流份 71~160、222~274。流份 222~274 经加压硅胶柱色谱及 PHPLC(20%乙腈)制备分离, 得到化合物 1 和 2。流份 71~160 经加压硅胶柱色谱、ODS 柱色谱(25%乙腈)及 PHPLC(28%乙腈)制备分离, 得到化合物 4。90%乙醇洗脱部分, 经加压硅胶柱色谱, 氯仿—甲醇—水(9:1:0.01~2:1:0.01)梯度洗脱, 得到流份 81~113, 经 ODS 柱色谱(48%乙腈)及 PHPLC(53%)制备分离, 得到化合物 3、5。

3 结构鉴定

见表 1。化合物 1: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶, 可溶于水、甲醇和乙醇。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂反应呈阳性, 说明化合物 1 为呋甾皂苷。HR-ESI-MS(negative) m/z: 1 213.587 5 [M-H]⁻(Calcd for C₅₆H₉₃O₂₈, 1 213.585 3), 提示分子式为 C₅₆H₉₄O₂₈。ESI-MS/MS(negative) (m/z): 1 081.5 [M-H-132]⁻, 757.4 [M-H-132-162-162]⁻, 595.4 [M-H-132-162-162-162]⁻, 433.3 [M-H-132-162-162-162-162]⁻, 提示化合物 1 含有 4 个六碳糖基和 1 个五碳糖基。¹H-NMR(pyridine-d₅, 600 MHz): δ 0.86(3H, s), 0.62(3H, s), 0.96(3H, d, J=8.4 Hz)和 1.32(3H, d, J=7.8 Hz)为苷元 4 个甲基氢信号; δ 5.56(1H, d, J=9.0 Hz, H-1'), 5.23(1H, J=9.0 Hz, H-1''), 5.18(1H, J=9.6 Hz, H-1'''), 4.87(1H, J=9.0 Hz, H-1'''), 4.80(1H, J=9.0 Hz, H-1''')为 5 个糖基的端基氢信号, 偶合常数均≥7, 说明 5 个糖端基质子均为 β 构型; 26 位两个氢化学位移值为: δ 3.91(1H, m, 26-Ha)和 3.60(1H, dd, J=7.2, 11.4 Hz, 26-Hb), 其差值 Δab=0.31<0.48, 根据 Agrawal^[3-4]总结的呋甾皂苷

25R 和 25S 异构体的波谱规律, 确定其为 C-25R 构型。¹³C-NMR(pyridine-d₅, 150 MHz): δ 102.5, 105.0, 105.0, 105.0 和 105.2 为 5 个糖基的端基碳信号; δ 110.6 为呋甾皂苷特征的 C-22 半缩醛信号。化合物 1 的 NMR 和文献报道的 uttroside B 的数据一致^[5]。因此, 化合物 1 的结构鉴定为(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-3β, 22α, 26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷, 即 uttroside B。

化合物 2: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶, 可溶于水、甲醇和乙醇。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂反应呈阳性, 说明化合物 2 为呋甾皂苷。HR-ESI-MS(positive) m/z: 1 251.560 3 [M+Na]⁺(Calcd for C₅₆H₉₂O₂₉Na, 1 251.562 2), 提示其分子式为 C₅₆H₉₂O₂₉。ESI-MS/MS(negative) m/z: 1 227.565 2 [M-H]⁻, 1 095.531 5 [M-H-132]⁻, 933.473 9 [M-H-132-162]⁻, 771.416 7 [M-H-132-162-162]⁻, 591.355 5 [M-H-H₂O-132-162-162-162]⁻, 429.302 7 [M+H-H₂O-132-162-162-162-162]⁺, 提示化合物 2 含有 4 个六碳糖基和 1 个五碳糖基。¹H-NMR(pyridine-d₅, 600 MHz): δ 0.64(3H, s), 1.13(3H, s), 0.97(3H, d, J=8.4 Hz)和 1.53(3H, d, J=10.8 Hz)为苷元 4 个甲基氢信号; δ 5.57(1H, d, J=9.0 Hz, H-1'), 5.23(1H, J=9.0 Hz, H-1''), 5.18(1H, J=9.0 Hz, H-1'''), 5.04(1H, J=13.2 Hz, H-1'''), 4.81(1H, J=9.6 Hz, H-1''')为 5 个糖基端基氢信号; 26 位两个氢的化学位移为: δ 3.93(1H, m, 26-Ha)和 3.60(1H, dd, J=7.2, 11.4 Hz, 26-Hb), 确定其为 C-25R 构型。¹³C-NMR(pyridine-d₅, 150 MHz): δ 110.8 为呋甾皂苷特征的 C-22 半缩醛信号; 低场区 δ 102.4, 104.9, 105.0, 105.0 和 105.2 为 5 个糖基的端基碳信号。化合物 2 的 NMR 和文献报道的 polianthoside D 的数据一致^[6]。因此, 化合物 2 的结构鉴定为 25(R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-12-酮-3β, 22α, 26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷, 即 polianthoside D。

化合物 3: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶, 可溶于水、甲醇和乙醇。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂反应呈阴性, 说明化合物 3 为螺甾皂苷。HR-ESI-MS(negative) m/z: 1 149.575 0 [M-H]⁻(Calcd for C₅₅H₈₉O₂₅: 1 149.569 3)提示分子式

为 $C_{55}H_{90}O_{25}$ 。ESI-MS/MS(negative)(m/z): 1 017.5[M-H-132]⁻, 885.5 [M-H-132-132]⁻, 723.4 [M-H-132-132-162]⁻, 577.4 [M-H-132-132-162-146]⁻, 415.4 [M-H-132-132-162-146-162]⁻, 提示化合物 3 含有 2 个六碳糖基、1 个甲基五碳糖基和 2 个五碳糖基。¹H-NMR(pyridine- d_5 , 600 MHz): δ 0.84(3H, s), 0.80(3H, s), 0.68(3H, d, $J=6.6$ Hz)和 1.12(3H, d, $J=8.4$ Hz)为苷元 4 个甲基氢信号; 1.71(3H, d, $J=6.6$ Hz)为鼠李糖特征甲基氢信号; δ 6.18(1H, s, H-1'), 5.43(1H, $J=9.0$ Hz, H-1''), 5.24 (1H, $J=9.0$ Hz, H-1'''), 4.97(1H, $J=9.6$ Hz, H-1'''), 4.84(1H, $J=9.6$ Hz, H-1''')为 5 个糖基的端基氢信号。¹³C-NMR(pyridine- d_5 , 150MHz): δ 100.2, 102.0, 105.1, 105.4 和 105.8 为 5 个糖基的端基碳信号; δ 109.2 为螺甾皂苷特征的 C-22 信号; δ 17.3, 提示化合物为 C-25R 构型。化合物 3 的 NMR 数据和文献报道的化合物 5 一致^[7]。因此, 化合物 3 的结构鉴定为替告皂苷元-3-O- β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 4)-[α -L-鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-吡喃半乳糖苷。

化合物 4: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶, 可溶于水、甲醇和乙醇。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂反应呈阳性, 说明化合物 4 为呋甾皂苷。HR-ESI-MS(negative) 显示: m/z 933.472 4 [M-H]⁻(Calcd for $C_{45}H_{73}O_{20}$, 933.468 0), 提示其分子式为 $C_{45}H_{74}O_{20}$; ESI-MS/MS(negative) m/z : 771.4 [M-H-162]⁻, 609.4 [M-H-162-162]⁻, 447.2 [M-H-162-162-162]⁻, 提示化合物 4 含有 3 个六碳糖基。在 ¹H-NMR(pyridine- d_5 , 600 MHz): δ 1.12(3H, s, CH3-18), 0.66(3H, s, CH3-19), 1.55(3H, d, $J=7.2$ Hz, CH3-21), 0.97(3H, d, $J=6.6$ Hz, CH3-27)为苷元 4 个甲基氢信号; δ 5.28(1H, d, $J=7.8$ Hz)、4.86(1H, d, $J=7.8$ Hz)、4.81(1H, d, $J=7.8$ Hz)为糖基端基质子信号。26 位两个氢的化学位移分别为: δ 3.94 (1H, m, 26-Ha)和 δ 3.61(1H, dd, $J=6.0, 9.6$ Hz, 26-Hb)。¹³C-NMR(pyridine- d_5 , 150 MHz): δ 102.4、105.0 和 107.2 为糖基的端基碳信号; δ 212.9 为 1 个酮基信号; δ 110.8 是呋甾皂苷特征的 C-22 半缩醛信号。化合物 4 的 NMR 数据和文献报道的化合物 6 一致^[8]。因此, 化合物 4 的结构鉴定为 (25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5 α -呋甾-3 β , 22 α , 26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)-吡喃半乳糖苷。

化合物 5: 白色无定形粉末, 易溶于吡啶, 微溶

于水、甲醇和乙醇。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂呈阴性, 说明化合物 5 为螺甾皂苷。HR-ESI-MS(negative) m/z : 1 047.510 9 [M-H]⁻(Calcd for $C_{50}H_{79}O_{23}$: 1 047.510 9), 提示分子式为 $C_{50}H_{80}O_{23}$ 。ESI-MS/MS m/z : 885.5 [M-H-162]⁻, 753.4[M-H-162-132]⁻, 591.4[M-H-162-132-162]⁻, 429.3[M-H-162-132-162-162]⁻, 提示化合物 5 含有 3 个六碳糖基和一个五碳糖基。¹H-NMR(pyridine- d_5 , 600 MHz): δ 0.68(3H, s), 1.11(3H, s), 1.34(3H, d, $J=7.2$ Hz)和 0.73(3H, d, $J=7.2$ Hz)为苷元 4 个甲

表 1 化合物 1-5 的 ¹³C-NMR 数据 (δ in pyridine- d_5 , 150 Hz)

位置	1	2	3	4	5	位置	1	2	3	4	5
1	37.2	36.7	37.3	36.7	36.6	3-O-Gal					
2	29.9	29.7	29.9	29.8	29.7	1	102.5	102.4	100.2	102.4	102.4
3	77.4	77.8	78.8	76.9	77.1	2	73.2	73.2	81.3	73.2	73.1
4	34.9	34.7	34.3	34.6	34.3	3	75.1	75.4	75.8	75.4	75.8
5	44.7	44.5	44.7	44.5	44.4	4	79.9	79.9	78.8	80.1	79.7
6	28.9	28.6	29.0	28.6	28.6	5	76.3	75.3	77.7	76.0	75.4
7	32.4	31.7	32.4	31.7	31.6	6	60.7	60.7	60.4	61.1	60.6
8	35.3	34.3	35.3	34.3	34.6		Glc	Glc	Rha	Glc	Glc
9	54.5	55.6	54.4	55.8	55.4	1	105.0	105.2	102.0	107.2	105.4
10	35.8	36.3	35.5	36.3	36.3	2	81.4	81.4	72.5	75.3	81.1
11	21.3	38.0	21.3	38.0	37.4	3	86.8	86.8	72.7	78.8	86.7
12	40.2	213.0	40.2	212.9	212.7	4	70.8	70.5	74.0	72.3	70.5
13	40.7	55.7	40.8	55.6	55.5	5	78.7	77.6	69.4	78.5	77.3
14	56.4	55.8	56.5	55.8	55.6	6	62.5	63.0	18.5	62.9	62.5
15	32.5	31.7	32.2	31.7	31.4		Glc	Glc	Glc		Glc
16	81.1	79.7	81.2	79.7	79.7	1	105.0	104.9	105.1		105.0
17	64.0	55.1	63.1	55.1	54.3	2	75.4	76.3	81.3		76.3
18	16.5	16.3	16.6	16.3	16.1	3	78.8	77.6	87.6		78.7
19	12.3	11.7	12.4	11.7	11.7	4	71.0	71.1	70.4		71.1
20	41.1	41.3	42.0	41.3	42.6	5	77.8	78.5	77.0		77.6
21	16.8	15.3	15.0	15.3	13.8	6	62.9	62.5	63.1		63.0
22	110.6	110.8	109.2	110.8	109.3		Xyl	Xyl	Xyl		Xyl
23	37.2	37.1	31.8	37.1	31.7	1	105.2	105.0	105.8		105.2
24	28.4	28.4	29.3	28.4	29.2	2	75.6	75.1	75.1		75.1
25	34.3	34.3	30.6	34.3	30.5	3	77.6	78.5	76.6		78.7
26	75.2	75.3	66.9	75.2	66.9	4	70.5	70.8	70.7		70.8
27	17.5	17.4	17.3	17.4	17.3	5	67.4	67.4	67.4		67.4
26-O-Glc									Xyl		
1	105.0	105.0		105.0		1			105.4		
2	75.1	75.1		75.3		2			75.1		
3	78.6	78.5		78.7		3			76.7		
4	71.7	71.7		71.8		4			70.7		
5	78.5	78.8		78.5		5			67.4		
6	62.9	62.9		63.2							

基氢信号; δ 5.57(1H, d, $J=9.0$ Hz, H-1'), 5.30(1H, d, $J=9.6$ Hz, H-1''), 5.18 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-1'''), 4.85 (1H, d, $J=9.0$ Hz, H-1''')为4个糖基的端基氢信号。 ^{13}C -NMR(pyridine- d_5 , 150 MHz): δ 212.7, 提示化合物5中含有一个酮基; δ 109.3为螺甾皂苷特征的C-22信号; δ 17.3, 提示化合物为C-25R构型; δ 102.4, 105.0, 105.2和105.4为4个糖基的端基碳信号。化合物5的NMR数据和文献报道的化合物4一致^[8]。因此,化合物5的结构鉴定为海柯皂苷元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-吡喃木糖基-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-吡喃半乳糖苷。

参考文献:

[1] 李玉红,许强,张伯礼,等.丹酚酸B与三七总皂苷不同配比对大鼠离体心脏冠脉流量的影响[J].天津中医药大学学报,2008,27(4):261-262.

- [2] 李宝龙,王康,刘忠平,等.蒺藜药理作用研究进展[J].吉林医药学院学报,2011,32(4):223-225.
- [3] Agrawal PK. Spectral assignments and reference data [J]. Magn Reson Chem, 2004, 42: 990-993.
- [4] Agrawal PK, Assigning stereodiversity of the 27-Me group of furostane-type steroidal via NMR chemical shifts [J]. Steroids, 2005, 70(10):715-724.
- [5] 周新兰,何祥久,姚新生,等.龙葵全草皂苷类化学成分研究[J].中草药,2006,37(11):1618-1621.
- [6] Jin JM, Zhang YJ, Yang CR. Spirostanol and furostanol glycosides from the fresh tubers of polianthes tuberosa[J]. Journal of Asian Natural Products, 2004, 67(1): 5-9.
- [7] Yan W, Kazuhiro C, Ryoji K, et al. Steroidal saponins from fruits of Tribulus terrestris[J]. Phytochemistry, 1996, 42(5): 1417-1422.
- [8] 苏兰.蒺藜果实中甾体皂苷类成分的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2008.

(收稿日期:2012-09-29)

Study on chemical components of Steroidal Saponins from *Tribulus terrestris* L.

WU Ke-lei^{1,2}, KANG Li-ping^{1,2}, XIONG Cheng-qi¹, ZHAO Yang¹, YU He-shui^{1,2}, ZHANG Jie¹, MA Bai-ping¹

(1. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

2. Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To investigate the chemical components of the herb *Tribulus terrestris* L. [Methods] The chemical components were isolated through column chromatography on macroporous resin (SP825), silica gel, octadecyl silica (ODS) columns and PHPLC. Their structures were identified by physicochemical properties and spectra data. [Results] Five steroidal saponins were obtained from *Tribulus terrestris* L. They were uttroside B (1), polianthoside (2), tigogenin-3-O- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-galactopyranoside (3), (25R)-26-O- β -D-glucopyranosyl-5 α -furost-12-one-3 β , 22 α , 26-triol-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-galactopyranoside (4) and hecogenin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-galactopyranoside (5). [Conclusion] Compounds 1 and 2 were obtained from *Tribulus terrestris* L. for the first time.

Key words: *Tribulus terrestris* L.; steroidal saponins; isolation and purification; structural elucidation