

蒺藜果实中 C_{21} 甾体类化合物结构解析

刘 颖¹ 陈 光¹ 胡高飞² 喻长远^{1*}

(北京化工大学: 1. 生命科学与技术学院; 2. 理学院, 北京 100029)

摘 要: 采用柱层析等分离方法, 从蒺藜 (*Tribulus terrestris* L.) 果实乙醇提取液的正丁醇萃取层中, 分离到两种化合物。通过核磁共振、酸水解、薄层检测等方法鉴定了它们的结构。这两种化合物都是 C_{21} 甾体类化合物, 分别为 3-O- β -lycotetraosyl 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16-en-20-one (I) 和 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16(17)-en-20-one-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 (II)。其中化合物 I 在蒺藜科首次发现, 化合物 II 在蒺藜中首次发现。

关键词: 蒺藜; C_{21} 甾体类; 核磁共振; 酸水解

中图分类号: R284.1

引 言

蒺藜 (*Tribulus terrestris* L.) 属蒺藜科蒺藜属植物, 其果实为中国传统中药, 具有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒的功效。蒺藜中含有甾体皂苷类、黄酮类、生物碱、挥发油氨基酸类、萜类、脂肪酸等成分^[1]。 C_{21} 甾体化合物是 1 类含有 21 个碳原子的甾体衍生物。此类化合物多具有抗炎、抗肿瘤等生物活性, 主要分布在玄参科、夹竹桃科、萝藦科等^[2], 但在蒺藜科十分少见。至今为止, 只有 Abdel-Hameed 等^[3]在 *Tribulus macropterus* 中发现此类化合物。本文首次从蒺藜中分离得到两种 C_{21} 甾体类, 化合物 I (47 mg)、化合物 II (29 mg), 经鉴定分别为 3-O- β -lycotetraosyl 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16-en-20-one 和 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16(17)-en-20-one-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。这两种化合物的糖基部分信号重叠严重, 对该信号的归属缺少比较直接的依据。Fujiwara 等^[4]仅仅从化学位移和以往积累的经验来推断化合物 I 的结构。本文通过对化合物 I 重水交换和 1D-TOCSY (核磁共振一维相关实

验) 的测定为糖基信号准确归属提供了必要的理论依据。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

蒺藜果实, 2006 年 5 月购于河北省, 经鉴定为蒺藜的干燥果实。

AV600 型超导液体核磁共振仪, 德国 Bruker; RE-52AA 型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; HH-S2 型电热恒温水浴锅, 山西金燕电热仪器厂。

ZCX-II 型柱层析硅胶, 200~300 目, 青岛海洋化工有限公司; GF254 型薄层层析硅胶, 分析纯, 青岛海洋化工有限公司; ODS-A, 12 nm, S-50 μ m, AA12S50, 日本 YMC; 羟丙酰基交联葡聚糖凝胶, Sephadex LH-20, GE healthcare Bio-sciences AB, 北京慧德易科技有限责任公司。

1.2 化合物的提取和分离

干燥蒺藜果实 20 kg, 用 70% 乙醇加热回流提取 2 次, 得药液。依次按照极性的从小到大用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇对药液进行萃取, 分别回收溶剂, 挥干得各层萃取物^[5]。正丁醇萃取物浸膏为 207 g, 该浸膏用硅胶柱进行分离, 萃取物和硅胶 (质量比 1:1) 拌样, 采用湿法上柱分离, 氯仿-甲醇 (体积比 50:1、30:1、20:1、10:1、5:1、2:1、1:1) 梯度洗脱得粗品。氯仿-甲醇 (1:1) 洗脱得到的粗品部分再用硅胶、ODS-A 和 Sephadex LH-20 等分离柱进行细分, 得化合物 I (47 mg) 和化合物 II (29 mg)。

收稿日期: 2009-12-17

第一作者: 女, 1982 年生, 硕士生

* 通讯联系人

E-mail: yucy@mail.buct.edu.cn

1.3 酸水解和薄层检测

分别取化合物 I 和化合物 II 各 3 mg, 溶于 2 mol/L 盐酸-甲醇(体积比 4:1) 5 mL 中, 于 90 °C 加热回流 6 h。冷却后, 将混合物用去离子水定容到 20 mL, 再用 20 mL 的二氯甲烷萃取 3 次, 得水层^[6]。浓缩干燥后, 溶于甲醇中, 薄层检测($V_{\text{氯仿}}:V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=6:4:1$), 与标准糖对照。

2 结果与讨论

2.1 化合物 I 的结构鉴定

2.1.1 C_{21} 甾体母核结构鉴定

化合物 I: 白色粉末(氯仿-甲醇)。ESI-MS: 957 $[M + Na]^+$, 分子量 934。结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$, 确定其分子式为 $\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{21}$ 。通过 DEPT 谱(无畸变极化转移增强)判断 C 信号的类型。在 DEPT135 中, 发现 4 个碳信号($\delta 13.1$ 、 $\delta 17.1$ 、 $\delta 28.0$ 、 $\delta 32.9$)可能为伯碳信号, 但在 DEPT90 中, $\delta 32.9$ 为正信号, 所以其为叔碳信号。蒽藜中多含甾体皂苷类化合物, 典型的甾体皂苷一般含有 4 个甲基信号, 且每个甲基都连有次甲基, 在 $^1\text{H-NMR}$ 中表现为双重峰, 因此推测该化合物不属于甾体皂苷类。在对碳信号归类中发现, $\delta 197.2$ 为羰基碳信号, $\delta 156.3$ 为季碳信号, $\delta 145.6$ 为叔碳信号, 并且推测 $\delta 156.3$ 和 $\delta 145.6$ 为双键信号。同时在 $^1\text{H-NMR}$ 中, $\delta 6.58$ (1H, s, $J = 3$ Hz) 为烯氢信号, 在 HSQC 中与 $\delta 145.6$ 相关, 应为其上的烯氢, 而该烯烃在 HMBC 与 $\delta 197.2$ 具有远程相关, 提示该分子中具有双键与羰基共轭结构。此外, $\delta 2.22$ (3H, s) 与 $\delta 27.4$ 存在 HSQC 相关, 为 CH_3 信号, 在 HMBC 中又与羰基相关, 说明分子中具有双键和羰基共轭结构。图 1 中同时显示了 8 个双峰分别为: H1 ($\delta 4.20$, d, $J = 3.9$)、H2 ($\delta 4.41$, d, $J = 3.6$)、H3 ($\delta 4.49$, d, $J = 3.9$)、H4 ($\delta 4.71$, d, $J = 3.9$)、H5 ($\delta 5.03$, d, $J = 2.7$)、H6 ($\delta 5.09$, d, $J = 2.4$)、H7 ($\delta 5.26$, d, $J = 3.3$)、H8 ($\delta 5.66$, d, $J = 2.7$)。通过重水交换(图 2), 除了 H1 ($\delta 4.20$, d, $J = 3.9$)、H2 ($\delta 4.41$, d, $J = 3.6$)、H3 ($\delta 4.49$, d, $J = 3.9$)、H4 ($\delta 4.71$, d, $J = 3.9$), 其余的氢信号消失, 消失的氢信号均为活泼氢信号, 剩下的 4 个双峰信号为 4 个糖基端信号, 在 HMBC 谱图中找出其相关的碳信号, 分别是 H1 同 $\delta 101.4$ 、H2 同 $\delta 103.8$ 、H3 同 $\delta 103.8$ 、H4 同 $\delta 102.9$ 相关, 且该 4 个碳信号为叔碳信号, 不存在缩酮结构。综合以上信息, 推测该化合物为 C_{21} 甾体类化合

物, 表 1 为化合物甾体母核结构碳信号类型。

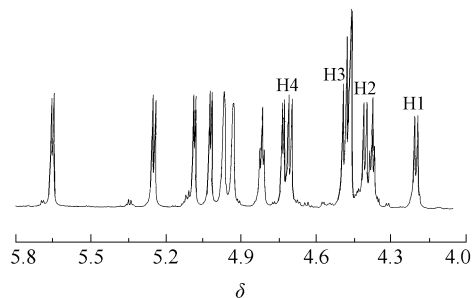


图 1 化合物 I 的氢谱图

Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound I

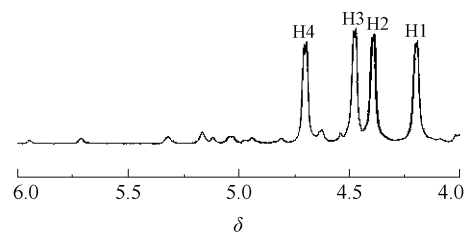


图 2 化合物 I 的重水交换谱图

Fig. 2 D_2O exchange of compound I

表 1 化合物 I 苷元的 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 DEPT

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ chemical shifts and DEPT of the aglycone part of compound I

C 序号	δ	DEPT	C 序号	δ	DEPT
1	36.7	CH_2	12	36.7	CH_2
2	30.7	CH_2	13	47.4	C
3	77.1	CH	14	55.7	CH
4	33.1	CH_2	15	32.9	CH_2
5	45.7	CH	16	145.6	CH
6	29.7	CH_2	17	156.3	C
7	33.1	CH_2	18	17.1	CH_3
8	36.1	CH	19	13.1	CH_3
9	57.2	CH	20	197.2	C
10	36.7	CH_2	21	28.0	CH_3
11	22.2	CH_2			

2.1.2 糖基类型及连接方式的鉴定

采用 1D-TOCSY 来推断其糖基连接顺序。分别选择 H1 ($\delta 4.21$, d, $J = 3.9$)、H2 ($\delta 4.41$, d, $J = 3.6$)、H3 ($\delta 4.49$, d, $J = 3.9$)、H4 ($\delta 4.71$, d, $J = 3.9$) 为激发核。由图 3 可看出 H1 与质子 ($\delta 3.20$ 、 $\delta 3.32$ 、 $\delta 3.78$ 、 $\delta 3.87$) 相关; H2 同质子 ($\delta 3.11$ 、 $\delta 3.23$ 、 $\delta 3.36$ 、 $\delta 3.57$ 、 $\delta 3.60$) 相关; H3 同质子 ($\delta 3.04$ 、

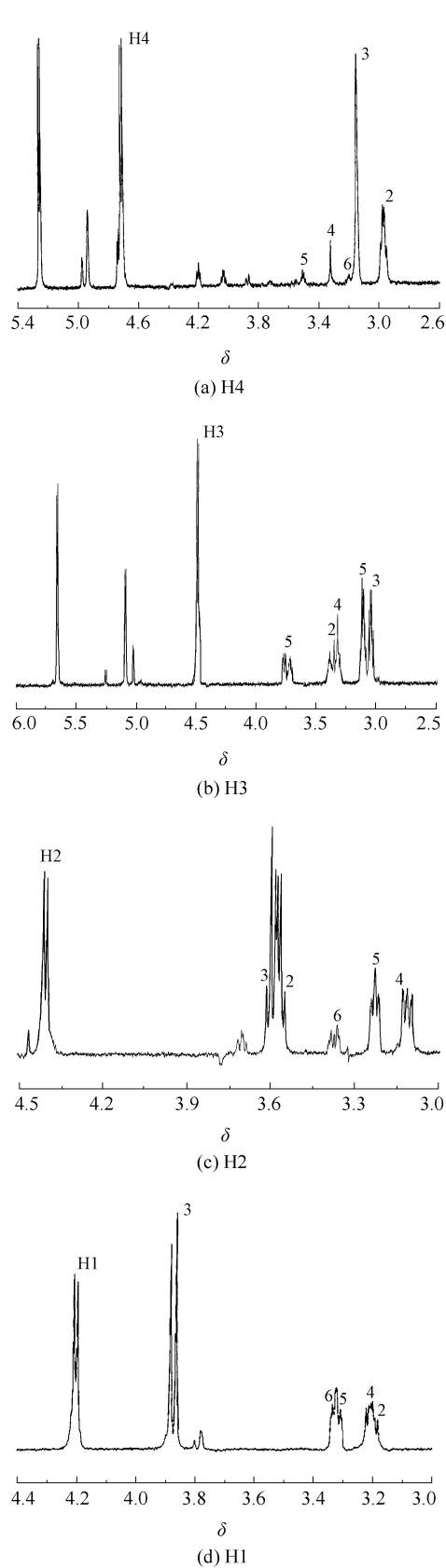
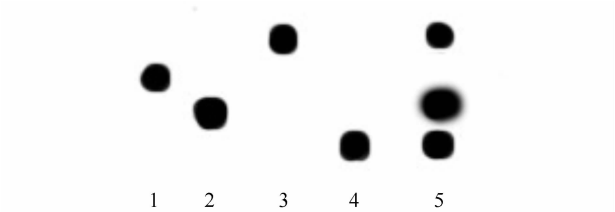


图 3 化合物 I 的 TOCSY 谱图

Fig. 3 TOCSY spectra of compound I

δ3. 12、δ3. 30、δ3. 35、δ3. 71、δ3. 76) 相关;H4 同质子 (δ2. 96、δ3. 14、δ3. 32、δ3. 51) 相关。综合酸水解薄层检测的结果(图 4),判断这 4 个糖基团分别为 1 个半乳糖、1 个鼠李糖、2 个葡萄糖基,而且均为 β 构型。从 HSQC 谱图中找出其相关碳,对 4 个糖基上的信号进行归属(表 2)。



1—鼠李糖; 2—葡萄糖; 3—木糖; 4—半乳糖; 5—化合物 I

图 4 化合物 I 薄层层析图

Fig. 4 TLC of compound I

表 2 化合物 I 糖基的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR

Table 2 ¹H-NMR chemical shifts and ¹³C-NMR chemical shifts of the sugar parts of compound I

位置	糖类型	δ	
		H	C
1	Glc	4. 71	102. 9
2	Glc	2. 96	74. 8
3	Glc	3. 14	77. 4
4	Glc	3. 32	74. 3
5	Glc	3. 51	77
6	Glc	3. 21	61. 8
1	Xyl	4. 49	103. 8
2	Xyl	3. 35	74
3	Xyl	3. 04	76. 9
4	Xyl	3. 3	69. 9
5	Xyl	3. 76	66. 3
5	Xyl	3. 12	77
1	Glc	4. 41	103. 8
2	Glc	3. 57	79. 8
3	Glc	3. 6	85. 5
4	Glc	3. 11	69. 9
5	Glc	3. 23	76. 5
6	Glc	3. 36	61. 3
1	Gal	4. 21	101. 4
2	Gal	3. 18	72
3	Gal	3. 87	74
4	Gal	3. 2	76. 4
5	Gal	3. 31	74
6	Gal	3. 32	59. 9

在 HMBC 中,H1 同 C3(δ77. 1)存在着远程相

关,且同时 C3 ($\delta 77.1$) 在 HSQC 中与 H ($\delta 4.21$) 相关,因此推断该处为半乳糖与 C₂₁ 母核的连接位点。在 HMBC 中, H2 ($\delta 4.41$) 同半乳糖的第 4 位 C ($\delta 76.4$) 相关,推断该内侧葡萄糖基同半乳糖的第 4 位 C 相连; H3 ($\delta 4.71$) 与内侧葡萄糖第 2 位 C ($\delta 79.8$)、H4 ($\delta 4.49$) 与内侧葡萄糖第 3 位 C ($\delta 85.5$) 存在 BC 相关,从而推断出 4 个糖基的连接位点。综合以上信息,可以确定该化合物是 C₂₁ 甾体类化合物。且该化合物在蒺藜科中首次发现。结构如图 5 所示。

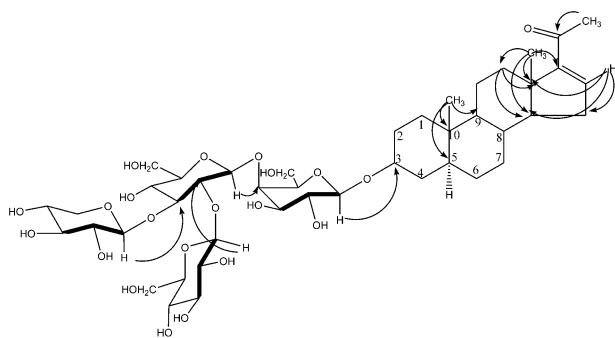
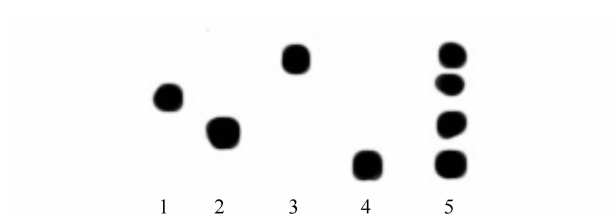


图 5 化合物 I 结构示意图

Fig. 5 The structure of compound I

2.2 化合物 II 的结构鉴定

化合物 II: 白色粉末(氯仿-甲醇),测定该化合物的¹H-NMR 和¹³C-NMR,对照化合物 I 的谱图,发现其也有一个明显的 C₂₁ 甾体母核信号,推断其为 C₂₁ 甾体类化合物。酸水解后薄层检测(图 6),判断其所连糖基分别 1 个半乳糖、2 个鼠李糖、1 个葡萄糖、1 个木糖基团。¹³C-NMR 数据和文献[4]中化合物 5 的基本一致,见表 3~4,确定该化合物为 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16(17) en-20-one-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,且在蒺藜中首次发现,结构如图 7 所示。



1—鼠李糖;2—葡萄糖;3—木糖;4—半乳糖;5—化合物 II

图 6 化合物 II 薄层层析图

Fig. 6 TLC of compound II

表 3 化合物 II 和化合物 5 的苷元部分¹³C-NMR 数据Table 3 ¹³C-NMR chemical shifts of the aglycone part of compounds II and V

碳序号	δ		碳序号	δ	
	化合物 II	化合物 5 ^[4]		化合物 II	化合物 5 ^[4]
1	37.8	38.2	12	36.1	36.4
2	30.7	30.6	13	47.4	47.6
3	78.5	78.9	14	57.2	57.9
4	33.1	33.3	15	32.9	32.5
5	45.7	46.4	16	146	147.2
6	29.7	29.9	17	156.2	156.7
7	33.1	33.2	18	17	16.4
8	35.2	35.3	19	13.2	12.3
9	55.8	56.5	20	197.6	199.5
10	36.8	37.1	21	28	27.2
11	22.1	22.2			

表 4 化合物 II 和化合物 5 的糖基部分¹³C-NMR 数据Table 4 ¹³C-NMR chemical shifts of the sugar part of compounds II and V

糖基类型	δ		糖基类型	δ	
	化合物 II	化合物 5 ^[4]		化合物 II	化合物 5 ^[4]
3-O-Gal	100.9	100.8	Gal(1-2) Rha	102.9	102.1
	77.4	77.1		73.2	72.5
	76.7	76		73.5	72.5
	82.2	82		74.8	73.2
	74.8	74.1		70.3	69.7
Gal(1-4) Glc	61.4	60.9	Glc(1-2) Xyl	19.3	17.9
	106.1	105.5		105.8	105.4
	82.2	81.9		75.8	75.4
	88.5	88.4		78.5	78.3
	71.1	70.5		71.6	71
Glc(1-3) Xyl	77.5	77.6		68.1	67.2
	63.4	63.3			
	106.4	105.4			
	75.9	75.4			
	78.5	78.5			
	71.6	71.1			
	68.3	67.3			

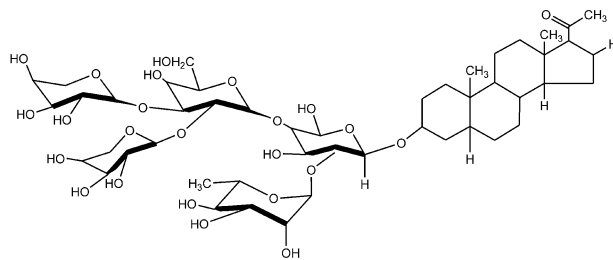


图 7 化合物 II 的结构图

Fig. 7 The structure of compound II

参考文献:

- [1] 徐雅娟, 黄小蕾, 解生旭, 等. 蒺藜果化学成分的分
离和鉴定[J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(3): 484 –
486.
Xu Y J, Huang X L, Xie S X, et al. Isolation and Iden
tification of a New Furosteroidal Saponin from Fruits of
Tribulus Terrestris L. [J]. Chemical Journal of Chinese
Universities, 2007, 28(3): 484 – 486. (in Chinese)
- [2] 章华, 冯锋, 檀爱民, 等. C_{21} 甾体类化合物及其核磁
共振谱学综述[J]. 海峡药学, 2008, 20(2): 1 – 5.
Zhang H, Feng F, Tan A M, et al. Advanced study of
 C_{21} steroidal glycosides and their ^{13}C -NMR data [J].
Strait Pharmaceutical Journal, 2008, 20(2): 1 – 5. (in
Chinese)
- [3] Abdel-Hameed E S, El-Nahas H A, Ei-Wakil E A, et
al. Cytotoxic Cholestane and Pregnane Glycosides from
Tribulus macropterus [J]. Z Naturforsch, 2007, 62: 319 –
325.
- [4] Fujiwara Y, Yoshizaki M, Matsushita S, et al. A New
Tomato Pregnane Glycoside from the Overripe Fruits [J].
Chem Pharm Bull, 2005, 53(5): 584 – 585.
- [5] 王如意, 陈光, 喻长远. 白蒺藜果实的化学成分研究
[J]. 北京化工大学学报: 自然科学版, 2009, 36(增
刊): 79 – 82.
Wang R Y, Chen G, Yu C Y. Chemical constituents of
Tribulus terrestris L. [J]. Journal of Beijing University of
Chemical Technology: Natural Science, 2009, 36(sup-
pl): 79 – 82. (in Chinese)
- [6] Su L, Chen G, Feng S G, et al. Steroidal saponins from
Tribulus terrestris [J]. Steroids, 2009, 74: 399 – 403.

 C_{21} -steroid compound analysis of *Tribulus terrestris* fruitsLIU Ying¹ CHEN Guang¹ HU GaoFei² YU ChangYuan¹

(1. College of Life Science and Technology; 2. School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Two compounds have been isolated by column chromatography from the n-butanol extracts of *Tribulus terrestris* fruits. The chemical structures of these two compounds were characterized by NMR spectroscopy, acid hydrolysis and TLC. Both are C_{21} steroids, namely 3-O- β -lycotetraosyl 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16-en-20-one (I) and 3 β -hydroxy-5 α -pregn-16(17)-en-20-one-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-galactopyranosyl (II). This is the first time that compound I has been isolated from the family Zygophyllaceae, and the first time that compound II has been reported in *Tribulus terrestris*.

Key words: *Tribulus terrestris*; C_{21} -steroid; NMR; acid hydrolysis