

## 蒺藜中一个新的有机酸成分的分离与鉴定

陈海生\*, 陈前进, 宣伟东

(第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** 目的: 研究蒺藜的水溶性成分。方法: 采用 80% 乙醇提取, 硅胶柱层析(用不同比例二氯甲烷-甲醇混合溶剂洗脱)分离和光谱分析鉴定化合物结构。结果和结论: 从蒺藜中分离出 1 种微量水溶性成分, 经 UV、IR、<sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR、DEPT、<sup>2</sup>D-NMR、MS 等光谱分析鉴定为新的有机酸, 分子式为 C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, 相对分子质量为 158, 命名为蒺藜酸(terrestrial acid, 6-氨基-4-羰基-1, 2, 3, 4-四氢-1, 3, 5-三唑-2-甲酸)。

**[关键词]** 蒺藜; 化学成分; 蒺藜酸

**[中图分类号]** R 282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2004)11-1241-02

### A new organic acid from *Tribulus terrestris*

CHEN Hai-Sheng\*, CHEN Qian-Jin, XUAN Wei-Dong (Department of Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the water soluble chemical constituent from *Tribulus terrestris* L. **Methods:** The raw material was extracted by 80% ethanol and the compound was isolated by means of chromatography on silica gel column. The structure of compound was elucidated by spectral analysis (UV, IR, <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR, DEPT, <sup>2</sup>D-NMR, MS). **Results and Conclusion:** A water soluble constituent has been isolated from *Tribulus terrestris* L. Based on the spectroscopic data, it is identified as a new organic acid named terrestrial acid (6-amino-4-oxo-1, 2, 3, 4-tetrahydro-1, 3, 5-triazine-2-carboxylic acid).

**[KEY WORDS]** *Tribulus terrestris* L.; chemical constituent; terrestrial acid

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(11): 1241-1242]

\* 蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)为一传统中药,具有散风、明目、下气和行血之功效。近年来的研究证明,该药材所含的皂苷部分具有明显的心血管活性<sup>[1-4]</sup>、抗微生物和细胞毒作用<sup>[5]</sup>。我们曾对该植物中的生物碱、皂苷和多糖等成分进行了研究<sup>[6-10]</sup>,本文报告该植物中一个水溶性成分的分离与鉴定。

### 1 材料和方法

1.1 药材、仪器及试剂 蒺藜采自河南省安阳地区,经第二军医大学药学院生药学教研室郑汉臣教授鉴定为蒺藜科植物蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)。Bruker AC-300 型磁共振仪; JM S-D 300 型质谱仪; UV-3000 紫外光谱仪; 日立 270-50P 红外光谱仪; 层析用硅胶(青岛海洋化工厂生产)。

1.2 提取、分离和成分鉴定 蒺藜全草 5 kg, 切碎,用 8 倍量体积的 80% 乙醇热提取 3 次,每次回流 1 h,醇提取液减压浓缩至无醇得浓缩液。浓缩液分别再用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇各 800 ml 萃取 3 次,正丁醇萃取部分减压回收溶剂后得正丁醇萃取物。将该提取物上硅胶柱进行层析分离,用不同比例的二氯甲烷-甲醇(10~1:1)梯度洗脱,二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱部分回收溶剂后,再进行硅胶柱层析分离

纯化得一微量结晶 10 mg(化合物 T-1)。采用 UV、IR、<sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR、DEPT、<sup>2</sup>D-NMR、MS 等光谱分析方法鉴定化合物 T-1 的化学结构。

### 2 结果和讨论

化合物 T-1 为无色针状结晶(甲醇)。EIMS(m/z)上显示分子离子峰为 158,结合 <sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR 和 DEPT 分析,确定分子式为 C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>。UV λ<sub>max</sub>(MeOH, nm): 225(主峰,说明有一共轭双键结构), 280(弱峰); IR(KBr 片, cm<sup>-1</sup>): 3 450, 3 350(NH), 3 200(缔和 OH), 3 075(不饱和 H), 1 720(COOH), 1 660(CO-NH-), 1 540, 1 180; <sup>1</sup>HNMR(DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 5.23(H, d, J = 7.1 Hz, 1-H, =CH-), 5.77(2H, s, -NH<sub>2</sub>), 6.87(H, d, J = 7.1 Hz, 6-H, -NH-), 8.01(H, s, CONH-), 10.51(H, s, COOH); <sup>13</sup>CNMR(DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 62.43(C1), 156.74(C5), 157.38(C7)和 175.62(C3); DEPT 证明 δ 62.43 为 1 个叔碳(=CH-), 而 δ 156.74、157.38

\* [基金项目] 上海市科委重点研究项目(02DJ14016)。

[作者简介] 陈海生(1951-),男(汉族),教授,博士生导师

\* Corresponding author. E-mail: haisheng@hotmail.com

和 175.62 为 3 个季碳。根据  $^1\text{H}-^1\text{HCO}SY$  证明 1-H 与 6-H 相关, 又根据 COLOC 远程相关谱证明: 1-H、2-H、6-H、7-H 与  $\delta 157.38$  (C7) 和  $\delta 2.43$  (C<sub>1</sub>) 相关, 1-H、2-H 与  $\delta 175.62$  (C3) 相关。EIMS ( $m/z$ ): 158 ( $M^+$ ), 114 ( $M-\text{CO}_2$ ), 113 ( $M-\text{COOH}$ ), 130 ( $M-\text{CO}$ ), 87 (基峰,  $130-\text{CO}_2$ )。综合以上光谱数据分析, 确定化合物 T-1 的化学结构如图 1, 该化合物为 1 个新化合物, 命名为蒺藜酸 (terrestrial acid, 6-氨基-4-羰基-1, 2, 3, 4-四氢-1, 3, 5-三唑-2-甲酸)。这种结构类型为该植物中首次发现, 该化合物的生物活性有待进一步研究。

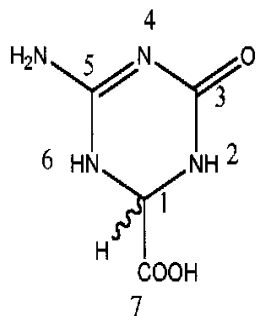


图 1 蒺藜酸的化学结构

Fig 1 Chemical structure of terrestrial acid

## 【参考文献】

[1] 廖日房, 彭 锋, 李国成, 等 蒺藜总皂苷抗大鼠急性心肌缺血和心肌梗塞药理作用的研究[J]. 中药材, 2003, 26(7): 502-504

- [2] 侯俊英, 王秀华, 李 红, 等 蒺藜皂苷对缺血再灌注损伤心肌细胞的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(4): 418-420
- [3] 徐一新, 陈海生, 梁华清, 等 蒺藜心血管活性成分研究[J]. 第二军医大学学报, 1998, 19(4): 380  
Xu YX, Chen HS, Liang HQ, et al. Studies on cardio-vascular active constituents from *Tribulus terrestris* [J]. *Dier Junyi Daxue Xuebao (Acad J Sec Mil Med Univ)*, 1998, 19(4): 380
- [4] 姜宗文, 吕文伟 蒺藜果总皂苷对大鼠实验性脑缺血的保护作用[J]. 中草药, 2002, 33(11): 1020-1022
- [5] Bedir E, Khan IA, Walker LA. Biologically active steroidal glycosides from *Tribulus terrestris* [J]. *Pharmazie*, 2002, 57(7): 491-493
- [6] 任渝江, 陈海生, 杨根金, 等 刺蒺藜果中一种新桂皮酰胺类成分的分离和鉴定[J]. 药学学报, 1994, 29(3): 204-206  
Ren YJ, Chen HS, Yang GJ, et al. Isolation and identification of a new derivative of cinnamic amide from *Tribulus terrestris* [J]. *Yaoxue Xuebao (Acta Pharm Sin)*, 1994, 29(3): 204-206
- [7] Xu YX, Chen HS, Liu WY, et al. Two saponins from *Tribulus terrestris* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(1): 199-201
- [8] Xu YX, Chen HS, Liang HQ, et al. Three new saponins from *Tribulus terrestris* [J]. *Planta Medica*, 2000, 66(6): 545-550
- [9] 刘 杰, 陈海生, 徐一新, 等 中药蒺藜化学成分的研究[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(2): 221-222  
Liu J, Chen HS, Xu YX, et al. Studies on chemical constituents of *Tribulus terrestris* [J]. *Dier Junyi Daxue Xuebao (Acad J Sec Mil Med Univ)*, 2003, 24(2): 221-222
- [10] Chen HS, Leung RN, Xu YX. An acidic polysaccharide from *Tribulus terrestris* [J]. *Chin Chem Lett*, 2002, 13(7): 625-628
- [收稿日期] 2004-08-30 [修回日期] 2004-09-16  
[本文编辑] 尹 茶

(上接第 1237 页)

治疗总有效率(显效+有效)有显著性差异( $P < 0.05$ )。治疗组止泻、止吐、退热、脱水纠正时间分别为(3.814 ± 0.161)、(2.793 ± 0.319)、(1.593 ± 0.112)、(3.032 ± 0.119) d, 而对照组分别为(4.984 ± 0.380)、(3.951 ± 0.350)、(2.604 ± 0.316)、(3.954 ± 0.255) d, 治疗组各项时间比对照组明显缩短( $P < 0.01$ )。治疗 72 h 无效的病例治疗组 8 例, 对照组 15 例, 加用其他方法或延长治疗时间至 6 d 后均获治愈。口服免疫球蛋白未发现明显不良反应。1 个月后随访, 治疗组无 1 例复发, 对照组 4 例复发。

## 3 讨论

由于生活水平的提高, 环境卫生条件的改善, 在我国病毒性肠炎的病死率已明显下降。但由于目前尚缺乏特效的抗轮状病毒疗法, 就本院所处的局部区域尤其是农村, 每年仍有死亡于并发症如心肌炎、脑炎的病例。因此很有必要寻找一种有效的抗轮状病毒的方法, 尽快纠正症状, 减少并发症的发生, 避免死亡。有学者<sup>[2]</sup>对轮状病毒肠炎时机体的体液免疫和局部免疫进行了研究, 认为 T 细胞介导的免疫反应在轮状病毒肠炎的发病机制中起主要作用, 其机制是 CD4 中的辅助 T 细胞可分泌某些细胞因子, 调节肠道免疫球蛋白

的产生, 阻止疾病发展, 促进疾病恢复。而在轮状病毒感染肠炎急性期血液中 T 细胞亚群 CD3 及 CD4 细胞减少, 细胞免疫受到抑制, 免疫反应低下。有研究表明<sup>[3]</sup>, 人血清免疫球蛋白制剂对 1~4 型人轮状病毒中和抗体滴度分别高达 1:800, 1:1600, 1:3200, 1:1600。本组病例应用的猪免疫球蛋白口服液是由猪血清提取的含有轮状病毒特异性中和抗体的复合免疫球蛋白, 主要成分为 IgA、IgG, 其中 IgA、IgM 可获分泌片段, 不被消化酶破坏。观察到口服免疫球蛋白可使患儿临床症状消失加速, 止泻较快, 住院天数缩短, 治疗中未发现明显不良反应, 并且随访 1 个月未发现轮状病毒二次感染病例。效果显著, 值得推荐临床应用。

## 【参考文献】

- [1] 方鹤松, 段恕诚, 董宗祈, 等 中国腹泻病诊断治疗方案[J]. 临床儿科杂志, 1994, 12(3): 148-151
- [2] 李 泳, 高铁铮, 周建华, 等 小儿轮状病毒肠炎 T 细胞亚群的动态观察及意义[J]. 临床儿科杂志, 1994, 12(3): 153-154
- [3] 金敏摘 口服免疫球蛋白治疗轮状病毒性肠炎[J]. 国外医学·儿科学分册, 1995, 22(2): 104-105
- [收稿日期] 2004-03-30 [修回日期] 2004-06-08  
[本文编辑] 孙 岩