

不同产地蒺藜及其不同药用部位化学成分的比较研究

王芳旭^{1,2}, 王镇方², 康利平², 石明辉⁴, 孙欣光², 赵阳², 张洁², 郭宝林³, 马百平^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850

3. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

4. 新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002

摘要: 目的 分析国内不同产地蒺藜果实之间以及果实与全草之间化学成分的差异。方法 色谱分离采用 Acquity HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (Waters, 100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 0.1%甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 质谱分析利用四级杆串联飞行时间质谱 (Q-TOF MS^E); 所得数据采用主成分分析法 (PCA) 及正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 进行处理, 差异标志物通过精确相对分子质量和碎片离子鉴定结构。结果 PCA 结果显示本实验所研究的各产地蒺藜果实之间无显著差异, 而蒺藜果实与全草之间存在一定差异性, 并利用液质联用技术鉴定了两者之间差异性较大的 12 个化学成分, 其中 9 个主要存在于果实中, 另外 3 个主要存在于全草中。结论 通过研究国内几个重要产区蒺藜果实之间及果实与全草之间化学成分的差异, 为蒺藜资源的合理利用以及临床用药提供理论依据。

关键词: 蒺藜; 超高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱; 主成分分析法; 正交偏最小二乘判别分析; 化学成分差异分析
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)06-0897-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.06.007

Comparative analysis on chemical constituents in different parts of *Tritulus terrestris* from different areas

WANG Fang-xu^{1,2}, WANG Zhen-fang², KANG Li-ping², SHI Ming-hui⁴, SUN Xin-guang², ZHAO Yang², ZHANG Jie², GUO Bao-lin³, MA Bai-ping²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

4. Xinjiang Chinese and Minority Nationality Medicine Research Institute, Urumqi 830002, China

Abstract: Objective To analyze the chemical differences in the fruits of *Tritulus terrestris* from different areas in the domestic and explore the potential chemical markers between the fruits and whole plants of *T. terrestris*. **Methods** Chromatographic separation was carried out on the Acquity HSS T3 C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm, Waters) with the mobile phase composed of 0.1% formic acid in water-acetonitrile in the gradient elution. A hybrid quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (Q-TOF MS^E) was used for mass spectrometric analysis. The obtained datasets were processed by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). Finally, the structures of chemical markers between fruits and whole plants were identified based on their exact mass data and fragmentation characteristics. **Results** There was almost no difference in fruits of *T. terrestris* from different areas of China. However, the compounds existed in the fruits were different from those in the whole plants of *T. terrestris*. Eventually 12 chemical markers between fruits and whole plants of *T. terrestris* were identified online including nine chemical markers mainly distributed in the fruits and three chemical markers mainly distributed in the whole plants. **Conclusion** This study could provide the guidance for the utilization of resource and treatments of *T. terrestris* in clinic by comparative analysis on chemical constituents in the different parts of *T. terrestris* from different areas.

Key words: *Tritulus terrestris* L.; UPLC-Q-TOF MS^E; PCA; OPLS-DA; comparative analysis of chemical constituents

收稿日期: 2015-09-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81373938); 北京市自然科学基金面上项目 (7152114)

作者简介: 王芳旭 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。Tel: (010)66930282 E-mail: wangfangxu5@163.com

*通信作者 马百平 (1966—), 男, 研究员, 研究方向为天然药物化学。Tel: (010)66930265 E-mail: mabaiping@sina.com

蒺藜为大宗常用药材，系蒺藜科植物蒺藜 *Tritulus terrestris* L. 的干燥成熟果实，生于沙地、荒地、山坡，全球温带广泛分布。始载于《神农本草经》，被列为上品，具有平肝解郁、活血祛风、明目之功^[1]，传统上用于治疗头痛眩晕、乳闭乳痛、目赤翳障。蒺藜不仅在中国有着悠久的临床应用历史，且在全球也广泛应用，但药用领域存在明显差异。欧美地区蒺藜主要用于强壮肌肉、改善性功能；而在国内，蒺藜则以治疗心血管疾病为主。这种药效的不同应与它们的物质基础差异相关。研究显示，欧洲东南部、东亚和南亚产地的蒺藜存在不同的化学型^[2]。我国地域广袤，地理环境与气候条件相差甚大，生长于不同地域的蒺藜其成分可能同样存在差异。但迄今为止，国内学者主要对市场上较常见的东北、华北产地蒺藜药材化学成分进行了分析比较，而对蒺藜资源丰富且尚未被开发的新疆产区蒺藜却研究较少，故新疆产区蒺藜与市面流通的蒺藜药材化学型是否一致尚不明确^[3-5]。蒺藜传统药用部位为果实，但由于“心脑血管胶囊”成功上市且临床疗效显著，而其为蒺藜全草中提取的蒺藜总皂苷，因而蒺藜全草入药也引起研究者的广泛关注，但传统药用部位和全草两者是否可以互用，仍有待考察^[6]。因此比较新疆及其他产地的蒺藜果实之间化学成分的差异，探讨蒺藜全草与果实药效物质基础的差别将为蒺藜资源合理开发及临床应用提供理论指导。

本实验应用 UPLC-Q-TOF MS^E 技术结合多元统计分析方法开展对以新疆为主不同产地的蒺藜果实样品及蒺藜果实与全草样品的对比分析，旨在为全面合理开发利用蒺藜提供科学数据。

1 仪器与材料

Waters ACQUITYTM 超高效液相色谱系统(Waters 公司, Milford, MA, 美国); SYNAPT G1 质谱系统(Waters 公司, Manchester, 英国); Masslynx V4.1、Markerlynx、UmetricsEZinfo 2.0 软件(Waters 公司, Manchester, 英国); 色谱柱: Acquity HSS T3 C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, Waters, 爱尔兰); Sartorius BP211D 十万分之一电子天平; 天鹏 TP600 超声波清洗器; SPE 固相萃取柱为 Cleanert ODS C₁₈ (1 000 mg/6 mL, Agela, 天津); 0.22 μm 微孔滤膜(上海兴亚净化材料厂)。甲醇、乙腈(色谱纯, Fisher, 美国); 甲酸(色谱纯, Acros Co. Ltd., NJ, 美国); 屈臣氏蒸馏水(广州屈臣氏蒸馏水有限公司)。其他试剂均为市售分析纯。

实验样品实地采集于新疆 3 个产区, 共 12 个蒺藜样本; 北京 1 个蒺藜样本; 以及从安徽亳州药材市场购买的内蒙产蒺藜 2 个样本, 采集信息见表 1。各样本均经中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所郭宝林研究员鉴定为蒺藜科蒺藜属蒺藜 *Tribulus terrestris* L.。

知母皂苷 BII (内标)、25 个蒺藜对照品(表 2)

表 1 蒺藜采集地信息
Table 1 Sampling site information of *T. terrestris*

序号	采集地	GPS	海拔/m	采集日期
1	新疆伊犁新源县种羊场巩乃斯河北山坡	N43°36'19.57" E82°16'25.18"	829.4	2014-08-28
2	新疆伊犁伊宁县伊犁河北岸	N43°55'30.27" E81°10'32.17"	594.8	2014-09-07
3	新疆伊犁霍城县惠远乡农场四队	N43°59'52.07" E80°59'02.00"	636.7	2014-09-23
4	新疆伊犁尼勒克县克令乡黑山头村	N43°36'35.66" E82°09'38.14"	740.9	2014-08-28
5	新疆阿勒泰市污水净化处中水库(仅果实)	N47°38'28.53" E88°18'59.18"	894.0	2014-08-30
6	新疆阿勒泰市吉木乃县黑山头(仅果实)	N47°30'40.62" E86°49'31.34"	810.0	2014-09-02
7	新疆阿勒泰市可孜加尔水库上方(仅果实)	N47°33'21.11" E88°18'22.43"	690.0	2014-09-01
8	新疆昌吉吉木萨尔县老台乡宋庄村	N44°04'35.66" E88°50'3.10"	704.3	2014-09-10
9	新疆昌吉吉木萨尔县北庭镇南门村	N44°03'14.98" E89°13'11.86"	659.9	2014-09-10
10	新疆昌吉吉木萨尔县庆阳湖乡	N44°02'34.89" E89°01'49.72"	695.1	2014-09-10
11	新疆昌吉吉木萨尔县二工乡十八户村	N43°56'57.61" E89°16'10.78"	816.1	2014-09-10
12	新疆昌吉吉木萨尔县三台镇羊圈台子南戈壁地	N44°04'52.29" E88°54'2.14"	696.3	2014-09-10
13	北京丰台区门头沟农场路路旁	N39°50'28.83" E116°13'14.39"	58.1	2014-08-23
14	安徽亳州药材市场-内蒙产①(仅果实)	—	—	2014-10
15	安徽亳州药材市场-内蒙产②(仅果实)	—	—	2014-10

表 2 蒺藜对照品信息

Table 2 Information on reference substances of *T. terrestris*

序号	组别	名称	序号	组别	名称
1	1	25S-terrestrosin I	15	2	(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-20,22-二
2	1	25R-terrestrosin I			酮-3-O-β-D-吡喃木糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖
3	1	(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-12-酮-3β,22α,26-三醇-3-O-β-D-吡喃半乳糖基-(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			基-(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖-(1→4)-[α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)]-β-D-吡喃半乳糖苷
4	2	polianthoside D	16	2	tribuloside A
5	2	(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-3β,22α,26-三醇-12-酮-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-吡喃半乳糖苷	17	3	(25S)-24-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-螺甾-3β,24β-二
6	1	parvispinoside A			醇-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-吡喃鼠李糖基-(1→2)]-β-D-吡喃半乳糖苷
7	2	purpureagitosid	18	3	(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-5(6),20(22)-二烯-3β,26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷
8	2	terrestrinin I	19	3	(25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-20(22)-烯-3β,26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷
9	2	(25R)-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-吡喃鼠李糖基-(1→2)]-β-D-吡喃半乳糖苷	20	3	26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(25R)-5α-呋甾-20(22)-双键-3β,26-二醇-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-(1→4)-[α-L-鼠李糖基-(1→2)]-β-D-吡喃半乳糖苷
10	3	(20S,25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-22(23)-烯-3β,21α,26-三醇-3-O-β-D-吡喃半乳糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷	21	3	terrestrosin D
11	2	(20S,25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-22(23)-烯-3β,21α,26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β-D-吡喃木糖基-(1→3)]-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷	22	3	(25R)-5α-螺甾-12-酮-3β-一醇-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
12	1	parvispinoside B	23	3	F-gitonin 和 desglucolanatigonin II
13	2	terrestrinin D	24	3	gitonin 和 desgalactotigonin
14	2	uttroside B	25	3	25R-tribulosin

均为本实验室从蒺藜果实中分离得到,并通过波谱学鉴定结构^[7-8],且经 HPLC 检测,质量分数均大于 98%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY™ UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱, 线性梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 5%~15% B; 0.5~8.0 min, 15%~20% B; 8.0~14.0 min, 20%~25% B; 14.0~15.0 min, 25%~28% B; 15.0~18.0 min, 28%~35% B; 18.0~23.0 min, 35%~45% B; 23.0~27.0 min,

45%~50% B; 27.0~32.0 min, 50%~70% B; 32.0~34.0 min, 70%~80% B; 34.0~34.1 min, 80%~100% B; 34.1~36.0 min, 100% B; 体积流量 0.6 mL/min; 柱温 45 °C; 进样量 4 μL。

2.2 质谱条件

电喷雾电离离子源 (ESI), 离子化模式分为正、负离子, 离子源温度为 100 °C, 脱溶剂气体为氮气, 体积流量为 850 L/h, 温度为 450 °C。毛细管电压为 3 000 V, 锥孔电压为 30 V, 扫描范围为 *m/z* 100~1 500。低能量扫描时 trap 电压为 6 eV, transfer 电压为 4 eV; 高能量扫描时, 负离子模式: trap 电压

为 50~65 eV, transfer 电压为 12 eV, 正离子模式: trap 电压为 45~60 eV, transfer 电压为 12 eV。准确质量数用 leucineenkephalin 作校正液。

2.3 供试品溶液制备

2.3.1 内标溶液 精密称取知母皂苷 BII 对照品 1.53 mg, 溶于 5 mL 23% 乙腈, 配制成 0.306 mg/mL 溶液。

2.3.2 果实供试品溶液 15 个果实样品 (1~15) 分别粉碎后过 40 目筛, 各取药材粉末 1.0 g, 精密称定, 置于具塞三角瓶中, 分别加入体积分数为 60% 乙醇 20 mL, 浸泡 30 min 后超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 20 min, 冷却后经定量滤纸滤过, 重复上述操作 1 次, 合并滤液后经 SPE 固相萃取柱萃取, 再经体积分数为 80% 乙醇洗脱至 50 mL 量瓶中并定容, 取少量, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过后, 取续滤液 1 mL, 分别加入 100 μ L 内标溶液, 即得。

2.3.3 全草供试品溶液 10 个全草样品分为果实、茎、叶 3 部分, 分别粉碎后过 40 目筛, 按果实: 茎: 叶比例 0.127: 0.354: 0.519 取 1.0 g, 精密称定, 按照“2.3.2”项下方法处理后, 分别加入 100 μ L 内标溶液, 即得。

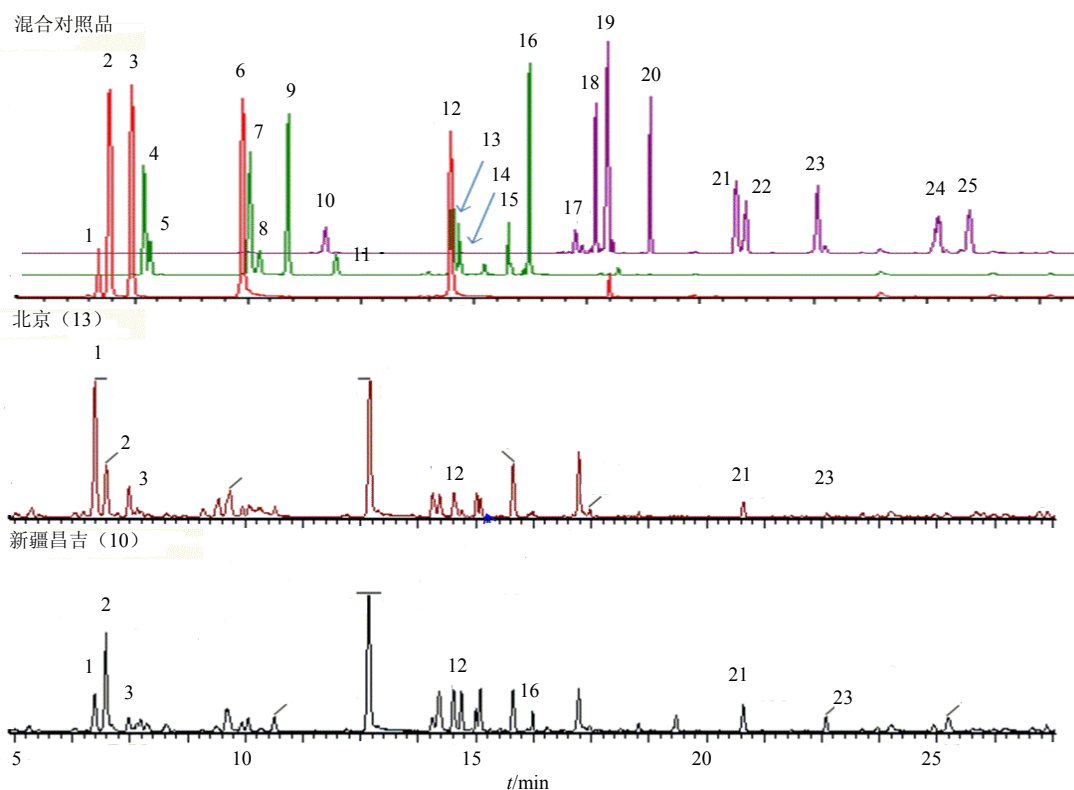
2.4 混合对照品溶液制备

由于螺甾皂苷在甲醇-水系统较易溶解, 而呋甾皂苷在甲醇-水系统易甲氧基化^[9], 在乙腈-水系统中完全溶解, 故将呋甾皂苷溶解于乙腈-水系统; 其他类型皂苷溶解于甲醇-水系统; 其中呋甾皂苷中存在多对 25 (*R/S*) 异构体, 为便于区分, 将呋甾皂苷分为两组 1、2, 其他类型皂苷为组 3 (23、24 为一对 25 (*R/S*) 异构体, 在反相 C_{18} 上无法实现分离), 各对照品序号按照保留时间排序, 见表 2。

25 个对照品各取 0.3 mg, 精密称定, 组 1、2 中各对照品分别溶解于 1 mL 23% 乙腈, 组 3 中各对照品分别溶解于 1 mL 70% 甲醇; 制得各对照品储备液。再分别取各组中对照品储备液各 100 μ L, 混匀, 即得。

2.5 不同产地蒺藜果实化学成分对比分析

2.5.1 蒺藜果实化学成分分析 根据液相色谱及质谱分析条件, 取蒺藜果实供试品溶液进行分析。根据对照品信息, 对 UPLC-Q-TOF MS^E 总离子流图相应色谱峰进行标记, 整体了解各果实中化学成分组成, 化合物编号见表 2。其中具代表性的果实供试品新疆昌吉 (10)、北京 (13) 的总离子流图见图 1。



对照品峰编号与表 2 一致

Peak No. of control substance is consistent with table 2

图 1 蒺藜对照品溶液及蒺藜果实 UPLC-MS 表征 BPI 图

Fig. 1 BPI profiled by UPLC-MS for reference solution of *T. terrestris* and fruits of *T. terrestris*

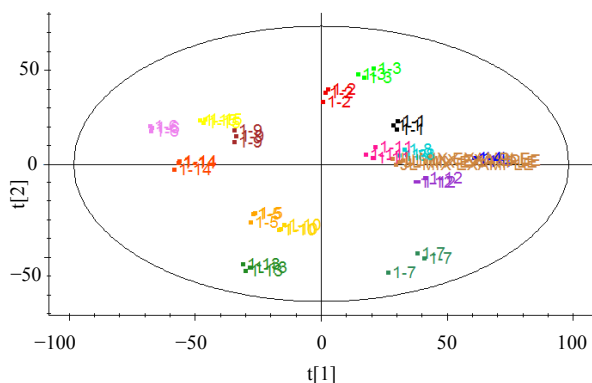
2.5.2 不同产地蒺藜果实化学成分主成分分析 (principal components analysis, PCA) 为了区分不同产地蒺藜果实化学成分的差异, 采用 PCA 模式识别各样品化学成分差异程度, 所得 PCA 得分图见图 2。PCA 得分图中蒺藜果实各样本均匀分布在图中, 且互相混杂, 说明各蒺藜果实样本无明显差异。

2.5.3 相对定量分析 PCA 分析结果显示各产地蒺藜果实主成分基本一致, 为了更好的了解各产地蒺藜果实化学成分的差异程度, 选取了蒺藜果实中

量较高的 10 个化学成分进行相对定量分析^[10]。统计各样本中各成分 (与样品无干扰的内标知母皂苷 BII 及上述 10 个化合物) 提取离子流色谱图的峰面积, 知母皂苷 BII 色谱峰面积记为 100, 然后将各色谱峰面积相对于内标色谱峰的峰面积量化。分析不同产地样品中各成分色谱峰的相对峰面积 (表 3) 可以发现, 新疆伊犁产蒺藜 (1~4) 成分基本一致; 新疆阿勒泰产蒺藜 (5~7) 之间成分差异较大; 新疆昌吉产蒺藜 (8~12) 化学成分差异性体现在同分异构体的种类和量上; 北京产蒺藜 (13) 样品中 25S-terrestrosin I (1) 量较高; 亳州药材市场购买内蒙产蒺藜果实 (14~15) 成分基本一致。

2.6 蒺藜果实与全草化学成分对比分析

对 10 组不同产地相对应的蒺藜果实与全草样本进行 PCA 分析, 所得 PCA 得分图见图 3。二维 PCA 得分图表明, 蒺藜果实样本与全草样本化学成分差异较大。为了进一步探寻区分蒺藜不同药用部位的差异性成分, 采用正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 进行处理, 得到 S-Plot 图 (图 4)。选择离散程度较大的点, 即 VIP 值大于 2.5 的点进行分析, 这些点代表对两者差异贡献较大的成分, 最终确定 15 个化学标志物 (其中果实中 12 个, 全草中 3 个), 见表 4。由表 4 可见, 蒺藜果实与全草之间主要差异性成分为



PCA 图中编号与表 1 一致
No. in PCA plot is consistent with Table 1

图 2 不同产地蒺藜果实 PCA 得分图

Fig. 2 PCA/Scores plot of *T. terrestris* fruits obtained from different producing areas

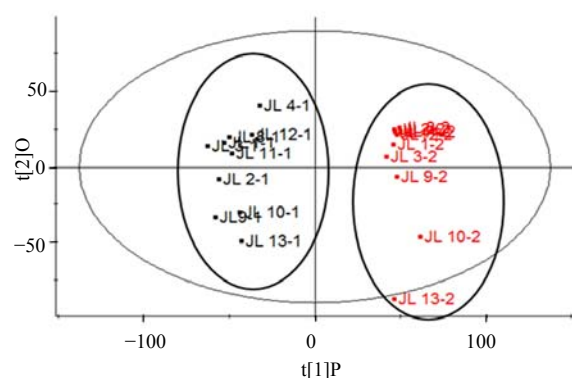
表 3 不同产地蒺藜果实中 10 个量较高成分相对峰面积

Table 3 Relative peak areas of each constituent in *T. terrestris* fruits from different producing areas

编号	1	2	3	4	6	7	12	14	21	24
1	10.841	20.572	—	32.965	—	27.434	—	139.159	4.204	—
2	8.402	18.946	—	9.555	—	17.133	—	65.898	2.471	3.130
3	7.432	22.072	—	36.036	—	33.559	—	188.288	6.081	3.604
4	8.865	16.489	—	46.631	—	12.411	—	154.362	4.433	0.532
5	12.152	21.007	5.729	19.097	4.687	4.861	16.493	8.507	13.541	9.722
6	32.877	24.659	0.913	4.795	—	—	—	4.795	10.502	2.511
7	5.075	17.481	4.135	8.835	10.714	18.421	51.128	55.639	4.323	7.519
8	12.955	27.530	1.215	28.138	—	30.364	—	137.65	17.409	11.538
9	18.065	30.753	—	5.806	—	7.957	—	21.935	6.022	4.731
10	19.517	44.736	7.675	6.798	4.825	7.895	23.903	23.465	14.035	7.675
11	11.367	19.005	—	19.360	—	22.913	95.027	—	3.730	2.487
12	9.634	14.836	3.276	20.617	4.432	27.360	8.478	127.168	14.066	8.863
13	64.161	23.699	14.451	2.505	—	—	11.753	3.661	6.166	1.156
14	17.660	17.881	0.883	5.960	—	—	—	5.739	15.232	3.753
15	13.394	42.202	—	12.110	—	4.587	—	8.440	8.990	1.835

表中化合物编号与表 2 一致

Compound No. is consistent with Table 2



PCA 图中编号与表 1 一致, JL-1 与 JL-2 分别代表蒺藜果实样品与蒺藜全草样品

No. in PCA plot is consistent with Table 1, JL-1 and JL-2 represent fruit and whole herb sample of *T. terrestris*

图 3 蒺藜果实与全草 PCA 得分图

Fig. 3 PCA/Scores plot of fruit and whole herb of *T. terrestris*

甾体皂苷类, 在负离子模式易产生 $[2M+HCOO]^-$ 加合离子峰, 通过将这些差异性成分的保留时间、精确相对分子质量及碎片离子与实验室对照品及相关文献比对^[7-8,11-14], 进行结构鉴定, 其结构见图 5。

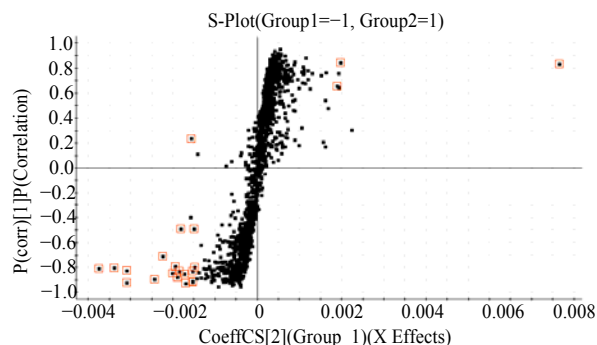


图 4 蒺藜果实与全草比较 S-Plot 分析图

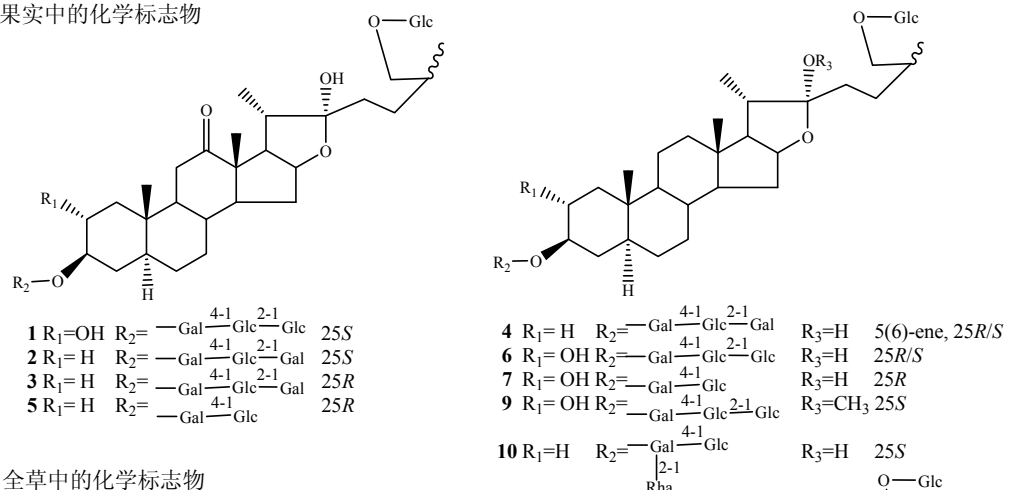
Fig. 4 OPLS-DA/S-Plot of fruit and whole herb of *T. terrestris*

表 4 蒺藜不同药用部位差异性成分的鉴定结果

Table 4 Identification of markers from different parts of *T. terrestris*

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	选择离子	分子式	偏差 ($\times 10^{-3}$)	主要存在部位	标志物鉴定
1	4.54	1 111.521 8	$[M-H]^-$	$C_{51}H_{84}O_{26}$	0.91	果实	tribufuroside I
2	6.73	1 095.527 4	$[M-H]^-$	$C_{51}H_{84}O_{25}$	4.90	果实	25S-terrestrosin I
3	6.97	1 095.533 7	$[M-H]^-$	$C_{51}H_{84}O_{25}$	8.25	果实	25R-terrestrosin I
4	7.64	1 125.540 8	$[M+HCOO]^-$	$C_{51}H_{84}O_{24}$	0.78	果实	terrestrosin J
5	7.85	933.471 8	$[M-H]^-$	$C_{45}H_{74}O_{20}$	0.80	果实	(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5 α -呋甾-3 β ,22 α ,26-三醇-12-酮-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 4)-吡喃半乳糖苷
6	9.59	1 097.545 7	$[M-H]^-$	$C_{51}H_{86}O_{25}$	1.26	果实	terrestrosin G
7	10.61	935.488 1	$[M-H]^-$	$C_{45}H_{76}O_{20}$	0.92	果实	terrestrosin F
8	14.65	1 213.592 4	$[M-H]^-$	$C_{56}H_{94}O_{28}$	1.02	全草	uttroside B
9	15.06	1 111.562 8	$[M-H]^-$	$C_{51}H_{84}O_{26}$	1.35	果实	(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5 α -呋甾-22-甲氧基-2 α ,3 β ,22 α ,26-四醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-吡喃半乳糖苷
10	15.07	1 065.554 3	$[M-H]^-$	$C_{51}H_{86}O_{23}$	1.13	果实	(25S)-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)-[α -L-鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-吡喃半乳糖苷
11	16.21	1 329.635 7	$[M-H]^-$	$C_{61}H_{102}O_{31}$	4.03	全草	tribuluside A
		1 375.650 6	$[M+HCOO]^-$		1.15		
12	25.92	1 195.584 9	$[M+HCOO]^-$	$C_{55}H_{90}O_{25}$	0.09	全草	25R-tribulosin
13	28.09	295.227 5	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{32}O_3$	1.06	果实	未鉴定
14	33.74	581.455 0	$[M-H]^-$	$C_{38}H_{62}O_4$	0.89	果实	未鉴定
15	33.99	333.227 5	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{38}O_5$	0.83	果实	未鉴定

果实中的化学标志物



全草中的化学标志物

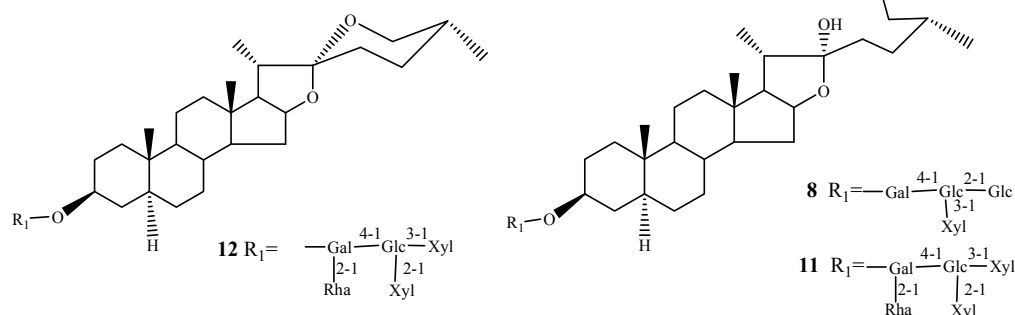


图 5 蒺藜不同药用部位差异性成分的结构

Fig. 5 Structures of markers from different parts of *T. terrestris*

果实中量较高的差异性成分：25*S*-terrestrosin I、(25*S*)-26-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-5α-呋甾-22-甲氧基-2α,3β,22α,26-四醇-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-*D*-吡喃半乳糖苷；全草中量较高的差异性成分为 uttroside B、tribuluside A。表 4 中化合物 13、14、15 可匹配出相应分子式，但由于缺少相应文献报道，其具体结构尚需进一步研究。

3 讨论

本实验样品取材方面，由于新疆地区蒺藜研究较少，故在新疆具有代表性的 3 个区域采集了 12 份蒺藜样品以期充分比较新疆产区蒺藜果实与常规使用的北京、内蒙产区蒺藜果实化学成分差异性。在研究方法上，结合 PCA 及相对定量分析方法，不仅可以从整体角度研究不同产地蒺藜果实主成分是否一致，而且可以充分了解不同产地蒺藜果实之间化学成分量的细微差别，比之前仅利用 HPLC 测定蒺藜药材中皂苷元或蒺藜总皂苷的方法更全面反映不同产地蒺藜果实的差异程度^[4-5]。尽管本实验的样品并未覆盖全国所有产区，但根据其地域跨度之大，亦可一定程度上说明国内各地区蒺藜果实中化学

成分总体差异较小，而这一结论也与通过研究不同产地蒺藜果实种质差异性所得出的结论不谋而合^[15-16]。与此同时，结合 PCA、OPLS-DA 分析方法找出了蒺藜全草与果实之间差异性较大的化学标志物，主要为甾体皂苷类成分，并对其结构进行了鉴定。但目前蒺藜药理活性研究主要对象为蒺藜总皂苷，对蒺藜中单体化合物研究较少，故蒺藜果实与全草之间物质基础的差异是否会带来药效的不同尚不明确，还需要进行后续的药理学等实验。

本实验首次应用 UPLC-Q-TOF MS^E 结合 PCA 及 OPLS-DA 模式的分析方法比较研究不同产地蒺藜及其不同药用部位化学成分的差异性。更全面、更科学地反映不同产地蒺藜药材的差异性，并给出了蒺藜果实与全草之间具有代表性的差异性成分，对蒺藜资源合理利用以及临床用药具有指导意义。

参考文献

- [1] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京：化学工业出版社，2001.
- [2] Dragomir D, Bogdan J, Liuba E, *et al.* Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(1):

- 176-186.
- [3] 张 萍, 周 旭, 王伽伯, 等. 紫外分光光度法测定不同产地蒺藜中总皂苷的含量 [J]. 解放军药学学报, 2010, 26(6): 533-535.
- [4] 李昊月, 冯 琳, 李瑞海, 等. 18 个不同产地蒺藜药材中蒺藜皂苷元的 HPLC 含量测定 [J]. 实用药物与临床, 2015, 18(1): 69-71.
- [5] 李瑞海, 冯 琳. 不同产地蒺藜药材中蒺藜皂苷元的 HPLC-ELSD 含量测定 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(10): 155-156.
- [6] 牛 伟, 翟伟菁, 曹群华, 等. RP-HPLC 比较蒺藜全草和果实中的主要甾体皂苷元成分 [J]. 中成药, 2005, 27(4): 456-458.
- [7] Kang L P, Wu K L, Yu H S, *et al.* Steroid saponins from *Tribulus terrestris* [J]. *Phytochemistry*, 2014, 107: 182-189.
- [8] 吴克磊, 康利平, 熊呈琪, 等. 蒺藜全草中甾体皂苷类化学成分研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(4): 225-228.
- [9] 戴 忠, 姜 红. 甾体皂苷研究进展 [J]. 中国药师, 2003, 6(10): 615-616.
- [10] 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.
- [11] Gheorghiu A, Ionescu-Matiu E. Presence of chlorogenin next to diosgenin and gitogenin in *Tribulus terrestris* [J]. *Ann Pharm*, 1968, 26(12): 745-798.
- [12] De Combarieu E, Fuzzati N, Lovati M, *et al.* Furostanol saponins from *Tribulus terrestris* [J]. *Fitoterapia*, 2003, 74(6): 583-591.
- [13] Liu Y, Wang Y M, Sun L K, *et al.* Steroidal glycosides from the fruits of *Tribulus terrestris* [J]. *Chem Nat Comp*, 2014, 50(3): 483-488.
- [14] Xu Y J, Xu T H, Xie S X, *et al.* Two New Furostanol from *Tribulus terrestris* L. [J]. *Chem Res Chin Univ*, 2010, 26(1): 46-49.
- [15] 张素军, 张学春. 不同产地蒺藜核糖体 DNA 内转录间隔区序列分析 [J]. 实用药物与临床, 2011, 14(2): 129-131.
- [16] 张素军. 不同产地蒺藜种质鉴定和化学成分聚类分析 [J]. 现代中药研究与实践, 2012, 26(2): 21-25.