

文章编号:1001-6880(2014)2-0162-05

# 苦棟化学成分及抗糖尿病活性研究

谭钦刚<sup>1\*</sup>, 赖春华<sup>1</sup>, 张贵杰<sup>1</sup>, 陈毅飞<sup>1</sup>, 覃德绩<sup>1</sup>, 王恒山<sup>2</sup><sup>1</sup>桂林医学院; <sup>2</sup>广西师范大学, 桂林 541004

**摘要:**为研究苦棟皮的化学成分及其抗糖尿病活性,采用正相、反相及 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等方法分离纯化化合物,通过波谱数据和理化性质分别鉴定为  $12\beta,20(S)$ -dihydroxydammar-24-en-3-one (**1**), dammarenediol II 3-O-caffeoate (**2**), 24-methylenecycloartenone (**3**), meliavolin (**4**), 3, 20-diacetyl-11-methoxy-1-tigloylmeliacarpinin (**5**), methyl 3-formyl-2,4-dihydroxy-6-methyl benzoate (**6**), usnic acid (**7**), *epi*-catechin (**8**)。其中化合物 **1~3, 6, 7** 均为首次从该植物中分离得到。采用酶偶联、液闪接近测定等技术测试化合物 **2~5** 体外抗糖尿病活性。研究结果表明,受试化合物 **2~5** 均未表现出 GK、SIRT1 体外激动活性和 DPPIV 抑制活性,但化合物 **2** 对人  $11\beta$ -HSD1 具有显著的抑制作用( $IC_{50} = 94.15 \text{ nmol/L}$ )。

**关键词:**苦棟;三萜;葡萄糖激酶;SIRT1;二肽基肽酶 IV; $11\beta$ -羟基类固醇脱氢酶

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

## Chemical Constituents from *Melia azedarach* and Their Anti-diabetes Activities

TAN Qin-gang<sup>1\*</sup>, LAI Chun-hua<sup>1</sup>, ZHANG Gui-jie<sup>1</sup>, CHEN Yi-fei<sup>1</sup>, QIN De-Ji<sup>1</sup>, WANG Heng-shan<sup>2</sup><sup>1</sup>Guilin Medical College; <sup>2</sup>Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

**Abstract:** The chemical constituents from the barks of *Melia azedarach* were isolated by silica gel, reverse phase silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, and their anti-diabetes activities were subsequently evaluated. Eight compounds were obtained and elucidated as  $12\beta,20(S)$ -dihydroxydammar-24-en-3-one (**1**), dammarenediol II 3-O-caffeoate (**2**), 24-methylenecycloartenone (**3**), meliavolin (**4**), 3, 20-diacetyl-11-methoxy-1-tigloylmeliacarpinin (**5**), methyl 3-formyl-2,4-dihydroxy-6-methyl benzoate (**6**), usnic acid (**7**) and *epi*-catechin (**8**) based on their spectra and physicochemical characteristics. Among these, compounds **1~3, 6**, and **7** were isolated from this species for the first time. All the tested compounds **2~5** were inactive against GK, SIRT1 and DPPIV, but compounds **2** showed significant inhibitory activity against human  $11\beta$ -HSD1 with  $IC_{50}$  value of  $94.15 \text{ nmol/L}$ .

**Key words:** *Melia azedarach*; triterpenoids; GK; SIRT1; DPPIV;  $11\beta$ -HSD

苦棟 (*Melia azedarach* L.) 为棟科 (Meliaceae) 棟属 (*Melia*) 植物,其树皮因良好的药理活性曾收载于 2010 年《中国药典》一部<sup>[1]</sup>。研究表明,苦棟叶提取物能使糖尿病小鼠的血糖水平显著下降且呈量效关系<sup>[2]</sup>,为了深入研究苦棟皮的化学成分及抗糖尿病活性,本实验对苦棟皮乙醇提取物的化学成分进行了研究,共分离得到 5 个三萜类成分和 3 个酚性化合物,并对分离得到的部分化合物进行了体外抗糖

尿病活性测试。研究结果表明,化合物 **1~3, 6, 7** 为首次从该植物中分离得到。受试化合物 **2~5** 均未表现出葡萄糖激酶 (glucokinase, GK)、组蛋白去乙酰化酶 (sirtuin1, SIRT1) 体外激动活性和二肽基肽酶 IV (dipeptidyl peptidase IV, DPPIV) 抑制活性,其中化合物 **2** 对人  $11\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 1 ( $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 1,  $11\beta$ -HSD1) 具有显著的抑制作用,并对人  $11\beta$ -HSD2 有良好的选择性。

## 1 仪器与材料

FAB-MS 用 VG Auto Spec-3000, EI-MS 用 VG ZAB-SH 质谱仪 (英国 VG 公司); NMR 用 Bruker AM-400 或 DRX-500 核磁共振仪测定 (德国 Bruker 公司, TMS 为内标); 酶标仪 (SpectraMax 190, 美国 Molecular Device 公司); PHS-3TC 型精密数显 pH 计

收稿日期:2013-09-09 接受日期:2013-11-21

基金项目:973 计划前期研究专项(2011CB512005);国家自然科学基金项目(81360477);国家重点实验室培育基地—广西壮族自治区药用资源化学与药物分子工程重点实验室基金项目(CMEMR2012-B05);2012 年度广西高等学校优秀人才资助计划。

\* 通讯作者 Tel:86-773-2295260; E-mail:qgtan77@gmail.com

(上海天达仪器有限公司);薄层层析检测用 UV-210 紫外分光光度计(上海元析仪器有限公司)。

柱层析硅胶(200~300 目),GF<sub>254</sub>薄层板为青岛海洋化工厂生产;Rp-18(40~65 μm)为德国 Merck 公司产品;Sephadex LH-20(40~70 μm)为瑞典 Pharmacia 公司产品;分离纯化用试剂为分析纯,10%的硫酸-乙醇溶液(加热)检测;阳性对照物 PSN-GK1、MK0431(FW:505)、白藜芦醇(RSV)、甘草次酸购自 Sigma 公司,小鼠或人 11β-HSD 基因购自 NIH Mammalian Gene Collection。

样品购自云南昆明,由中国科学院昆明植物研究所曾春霞博士鉴定为苦棟(*Melia azedarach* L.)的皮。

## 2 实验方法

### 2.1 提取与分离

苦棟皮干燥品(10 kg)粉碎,用 95% 的乙醇加热回流提取 3 次,滤液减压回收得提取物 570 g,水分散后用乙酸乙酯萃取 3 次,得乙酸乙酯萃取物 260 g,上硅胶柱层析,用氯仿:丙酮(1:0~1:1)系统梯度洗脱,得到七个组分(Fr. I~VII)。Fr. III 经硅胶柱层析,以石油醚-丙酮(6:1~3:1)洗脱,再经甲醇结晶得化合物 1(73.0 mg),6(5.8 mg)。Fr. IV 经 Rp-18 柱层析,以甲醇-水(7:3~10:0)洗脱,以 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1)过滤,甲醇结晶得化合物 2(56.1 mg),3(24.8 mg),4(29.5 mg)。Fr. V 经 Rp-18 柱层析,以甲醇-水(5:5~10:0)洗脱,甲醇结晶得化合物 5(383.2 mg)。Fr. VI 经 Rp-18 柱层析,以甲醇-水(4:6~10:0)洗脱,甲醇结晶得化合物 7(5.0 mg),丙酮结晶得化合物 8(9.3 mg)。

### 2.2 体外抗糖尿病活性研究

糖尿病发病原因复杂,某些酶与其发生发展密切相关,如 GK 在糖尿病患者血糖平衡控制中有减少肝脏葡萄糖生成和促胰岛素分泌的双重作用<sup>[3]</sup>,SIRT1 激动剂可改善肥胖糖尿病大鼠的胰岛素敏感性<sup>[4]</sup>,DPPIV 的活性增高与糖尿病的发生存在相关性<sup>[5]</sup>,抑制 11β-HSD 的活性可使糖尿病患者的代谢作用正常等<sup>[6]</sup>。

采用文献<sup>[7]</sup>描述的酶偶联分析法,测定化合物 2~5 对 GK 和 SIRT1 的激动活性;按文献<sup>[8]</sup>方法构建体外筛选模型并测定上述化合物抑制 DPPIV 的活性;按文献<sup>[9]</sup>方法,测定上述化合物对小鼠和人 11β-HSD 的抑制作用。

## 3 实验结果

### 3.1 化合物结构鉴定

**化合物 1** 无色针状结晶(MeOH),mp. 194~195 °C;FAB-MS(negative):*m/z* 457 [M-1]<sup>-</sup>;分子式 C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub>;<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ: 5.10(1H, t, *J*=6.9 Hz, H-24), 3.56(1H, m, H-12), 1.66(3H, s, H-26), 1.61(3H, s, H-27), 1.15(3H, s), 1.06(3H, s), 1.02(3H, s), 1.00(3H, s), 0.96(3H, s), 0.87(3H, s);<sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ: 39.7(t, C-1), 34.0(t, C-2), 217.9(s, C-3), 47.7(s, C-4), 55.2(d, C-5), 19.6(t, C-6), 34.0(t, C-7), 39.5(s, C-8), 49.3(d, C-9), 36.7(s, C-10), 30.9(t, C-11), 70.4(d, C-12), 48.6(d, C-13), 51.9(s, C-14), 31.5(t, C-15), 26.2(t, C-16), 49.9(d, C-17), 15.9(q, C-18), 15.3(q, C-19), 74.5(s, C-20), 21.7(q, C-21), 30.9(t, C-22), 21.9(t, C-23), 124.5(d, C-24), 132.0(s, C-25), 25.7(q, C-26), 17.8(q, C-27), 26.6(q, C-28), 20.9(q, C-29), 16.9(q, C-30)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 12β,20(S)-dihydroxydammar-24-en-3-one。

**化合物 2** 无色针状结晶(MeOH),mp. 205~206 °C;ESI-MS(negative):*m/z* 605 [M-1]<sup>-</sup>;分子式 C<sub>39</sub>H<sub>58</sub>O<sub>5</sub>;<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 9.58(1H, d, *J*=4.1 Hz, 3'-OH), 9.15(1H, d, *J*=6.9 Hz, 4'-OH), 7.43(1H, d, *J*=15.9 Hz, H-8'), 7.02(1H, s, H-2'), 6.98(1H, d, *J*=8.2 Hz, H-6'), 6.73(1H, d, *J*=8.2 Hz, H-5'), 6.22(1H, d, *J*=15.9 Hz, H-7'), 5.05(1H, t, *J*=7.2 Hz, H-24), 4.47(1H, dd, *J*=10.6, 4.1 Hz, H-3), 4.65(1H, d, *J*=11.8 Hz, H-1), 3.86(1H, s, 20-OH), 1.60(3H, s, H-26), 1.51(3H, s, H-27), 1.00(3H, s), 0.91(3H, s), 0.87(3H, s), 0.84(3H, s), 0.83(3H, s), 0.81(3H, s);<sup>13</sup>C NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 38.9(t, C-1), 24.3(t, C-2), 79.8(d, C-3), 38.1(s, C-4), 55.2(d, C-5), 17.8(t, C-6), 35.2(t, C-7), 39.9(s, C-8), 50.0(d, C-9), 36.6(s, C-10), 21.9(t, C-11), 24.9(t, C-12), 41.6(d, C-13), 49.9(s, C-14), 31.3(t, C-15), 27.3(t, C-16), 49.9(d, C-17), 16.4(q, C-18), 16.1(q, C-19), 73.0(s, C-20), 25.3(q, C-21), 41.3(t, C-22), 22.3(t, C-23), 125.3(d, C-24), 130.1(s, C-25), 25.6(q, C-26), 17.5(q, C-27), 27.8(q, C-28), 15.3(q, C-29), 16.6(q, C-30), 125.5(s, C-1'),

114.4(d, C-2'), 144.9(s, C-3'), 148.4(s, C-4'), 114.8(d, C-5'), 121.3(d, C-6'), 145.6(d, C-7'), 115.7(d, C-8'), 166.4(s, C-9')。以上数据与文献<sup>[11]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 dammarendiol II 3-O-caffeoate。

**化合物 3** 片状结晶(MeOH), mp. 110~112 °C; EI-MS:  $m/z$  438 [M]<sup>+</sup>; 分子式  $C_{31}H_{50}O$ ; <sup>1</sup>H NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 4.71(1H, br s, H-31), 4.65(1H, br s, H-31), 1.09(3H, s, H-30), 1.03(3H, s, H-29), 1.02(3H, d,  $J$ =6.5 Hz, H-27), 1.02(3H, d,  $J$ =6.5 Hz, H-26), 1.00(3H, s, H-18), 0.98(3H, s, H-28), 0.89(3H, d,  $J$ =6.0 Hz, H-21); <sup>13</sup>C NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 33.4(t, C-1), 37.4(t, C-2), 216.5(s, C-3), 50.2(s, C-4), 48.4(d, C-5), 21.5(t, C-6), 28.1(t, C-7), 47.8(d, C-8), 21.0(s, C-9), 25.9(s, C-10), 25.8(t, C-11), 35.5(t, C-12), 45.3(s, C-13), 48.7(s, C-14), 32.7(t, C-15), 26.7(t, C-16), 52.2(d, C-17), 18.3(q, C-18), 29.5(q, C-19), 36.1(d, C-20), 18.0(q, C-21), 34.9(t, C-22), 31.2(t, C-23), 156.7(s, C-24), 33.7(d, C-25), 21.9(q, C-26), 21.8(q, C-27), 19.3(q, C-28), 22.1(q, C-29), 20.7(q, C-30), 105.9(t, C-31)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 24-methylene-cycloartenone。

**化合物 4** 无色粉末, FAB-MS(negative):  $m/z$  709 [M-1]<sup>-</sup>; 分子式  $C_{41}H_{58}O_{10}$ ; <sup>1</sup>H NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 8.04(2H, d,  $J$ =7.7 Hz, H-3' and H-7'), 7.52(1H, m, H-5'), 7.38(2H, t,  $J$ =7.5 Hz, H-2' and H-6'), 5.30(1H, br. d,  $J$ =2.1 Hz, H-15), 5.13(1H, br. s, H-7), 4.83(1H, s, H-3), 4.65(1H, d,  $J$ =11.8 Hz, H-1), 3.92(br. s,  $W_{1/2}$ ,  $J$ =3.5 Hz), 3.54(1H, m, H-21), 2.12(3H, s, COCH<sub>3</sub>), 1.60(3H, s, COCH<sub>3</sub>), 1.35(3H, s, H-27), 1.24(3H, s, H-26), 1.08(3H, s, H-30), 1.06(3H, s, H-29), 0.96(3H, s, H-18), 0.95(3H, s, H-19), 0.86(3H, s, H-28); <sup>13</sup>C NMR ( $CDCl_3$ , 125 MHz)  $\delta$ : 72.6(d, C-1), 25.3(t, C-2), 77.0(d, C-3), 36.4(s, C-4), 37.3(d, C-5), 23.0(t, C-6), 75.4(d, C-7), 41.9(s, C-8), 35.2(d, C-9), 40.1(s, C-10), 16.0(t, C-11), 34.6(t, C-12), 46.3(s, C-13), 158.8(s, C-14), 119.2(d, C-15), 33.7(t, C-16), 56.8(d, C-17), 19.9(q, C-18), 16.1(q, C-19), 29.7(d, C-20), 65.2(t, C-21), 32.6(t, C-22), 67.4(d, C-23), 96.5(s, C-24), 76.3(s, C-25),

23.1(q, C-26), 24.1(q, C-27), 27.9(q, C-28), 21.3(q, C-29), 26.7(q, C-30), 165.2(s, C-1'), 130.5(s, C-2'), 129.4(d, C-3'), 128.2(d, C-4'), 132.9(d, C-5'), 128.2(d, C-6'), 129.4(d, C-7'), 169.7, 170.1(s, COCH<sub>3</sub>), 20.9, 21.3(q, COCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 meliavolin。

**化合物 5** 无色针状结晶(MeOH), mp. 215~217 °C; FAB-MS(positive):  $m/z$  733 [M+1]<sup>+</sup>; 分子式  $C_{37}H_{48}O_{15}$ ; <sup>1</sup>H NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 6.91(1H, dd,  $J$ =13.7, 6.3 Hz, H-3'), 6.40(1H, d,  $J$ =3.0 Hz, H-23), 5.65(1H, s, H-21), 5.38(1H, d,  $J$ =2.9 Hz, H-22), 4.89(1H, s, H-3), 4.75(1H, s, H-1), 4.23(1H, d,  $J$ =2.3 Hz, H-7), 4.14 and 3.84(2H, d,  $J$ =9.1 Hz, H-19), 4.11(1H, s, H-15), 3.93(1H, dd,  $J$ =12.9, 2.7 Hz, H-6), 3.68(3H, s, 12-OMe), 3.54 and 3.46(2H, d,  $J$ =2.5 Hz, H-28), 3.34(3H, s, 11-OMe), 3.03(1H, d,  $J$ =12.8 Hz, H-5), 2.91(1H, d,  $J$ =4.5 Hz, H-17), 2.10(3H, s, OCOCH<sub>3</sub>), 1.92(3H, s, OCOCH<sub>3</sub>), 1.48(3H, s, H-30), 1.34(3H, s, H-18), 0.98(3H, s, H-29); <sup>13</sup>C NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 70.1(d, C-1), 28.1(t, C-2), 70.7(d, C-3), 42.2(s, C-4), 34.9(d, C-5), 71.7(d, C-6), 82.9(d, C-7), 51.9(s, C-8), 48.1(d, C-9), 49.8(s, C-10), 106.6(s, C-11), 169.0(s, C-12), 93.5(s, C-13), 92.8(s, C-14), 81.9(d, C-15), 28.8(t, C-16), 48.1(d, C-17), 25.8(q, C-18), 70.5(t, C-19), 91.7(s, C-20), 105.8(d, C-21), 105.4(d, C-22), 146.7(d, C-23), 76.0(t, C-28), 18.1(q, C-29), 18.0(q, C-30), 166.6(s, C-1'), 128.2(s, C-2'), 138.1(d, C-3'), 14.3(q, C-4'), 12.0(q, C-5'), 170.2, 171.4(s, COCH<sub>3</sub>), 20.9, 21.4(q, COCH<sub>3</sub>), 52.3(q, C<sub>11</sub>-OCH<sub>3</sub>), 53.1(q, C<sub>12</sub>-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 3,20-di-acetyl-11-methoxy-1-tigloylmeliacarpinin。

**化合物 6** 无色针状结晶(MeOH), mp. 145~147 °C; EI-MS:  $m/z$  210 [M]<sup>+</sup>; 分子式  $C_{10}H_{10}O_5$ ; <sup>1</sup>H NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 12.89, (1H, s, 4-OH), 12.42(1H, s, 2-OH), 10.34(1H, s, CHO), 6.29(1H, s, H-5), 3.96(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.53(3H, s, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 193.9(s, CHO), 172.0(s, C-1'), 168.3(s, C-4), 166.6(s, C-2), 152.3(s, C-6), 112.1(d, C-5), 108.4(s, C-3), 103.8(s, C-1), 52.3(q, OCH<sub>3</sub>), 25.2(CH<sub>3</sub>, q)。以上数据与文

献<sup>[15]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 methyl 3-formyl-2,4-dihydroxy-6-methyl benzoate。

**化合物 7** 浅黄色针状结晶(MeOH),mp. 203~204 °C; FAB-MS(negative):  $m/z$  343 [M-1]<sup>-</sup>; 分子式为  $C_{18}H_{16}O_7$ ; <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 13.3 (1H, s, 7-OH), 11.0 (1H, s, 3-OH), 5.98 (1H, s, H-4), 2.68 (3H, s, H-14), 2.66 (3H, s, H-12), 2.11 (3H, s, H-15), 1.76 (3H, s, H-10); <sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 201.8 (s, C-1), 103.9 (s, C-2), 191.7 (s, C-3), 98.3 (d, C-4), 101.5 (s, C-6), 163.9 (s, C-7), 109.3 (s, C-8), 157.5 (s, C-9), 32.1 (q, C-10), 198.0 (s, C-11), 27.9 (q, C-12), 200.4 (s, C-13), 31.3 (q, C-14), 7.6 (q, C-15), 179.4 (s, C-4a), 155.2 (s, C-6a), 105.2 (s, C-9a), 59.1 (s, C-9b)。以上数据与文献<sup>[16,17]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 usnic acid。

**化合物 8** 浅黄色针状结晶(丙酮),mp. 241~243 °C; FAB-MS(negative):  $m/z$  289 [M-1]<sup>-</sup>; 分子式为  $C_{15}H_{14}O_6$ ; <sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$ : 6.82, (1H, d,  $J$ =1.5 Hz, H-2'), 6.75 (1H, d,  $J$ =8.1 Hz, H-5'), 6.70 (1H, dd,  $J$ =8.1, 1.6 Hz, H-6'), 5.91 (1H, d,  $J$ =2.2 Hz, H-6), 5.84 (1H, d,  $J$ =2.2 Hz, H-8), 4.55 (1H, d,  $J$ =7.5 Hz, H-2), 3.96 (1H, dd,  $J$ =13.8, 7.7 Hz, H-3), 2.83 (1H, dd,  $J$ =116.1, 5.4 Hz, H-3), 2.48 (1H, dd,  $J$ =16.1, 8.1 Hz, H-3); <sup>13</sup>C NMR(CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$ : 82.8 (d, C-2), 68.8 (d, C-3), 28.5 (t, C-4), 100.8 (s, C-4a), 157.8 (s, C-5), 96.3 (d, C-6), 157.6 (s, C-7), 95.5 (d, C-8), 156.9

表 1 化合物对小鼠和人抑制 11 $\beta$ -HSD1 型酶抑制率

Table 1 Inhibitory activity of compounds 2~5 against 11 $\beta$ -HSD1

化合物及浓度 Concentration of compounds	小鼠 HSD1 Mouse HSD1	人 HSD1 Human HSD1	化合物及浓度 Concentration of compounds	小鼠 HSD1 Mouse HSD1	人 HSD1 Human HSD1
GA(1 nmol/L)	19.92%	16.36%	3(1 $\mu$ mol/L)	10.70%	17.63%
GA(10 nmol/L)	48.67%	47.06%	4(1 $\mu$ mol/L)	10.64%	25.95%
GA(100 nmol/L)	80.25%	84.73%	5(1 $\mu$ mol/L)	10.76%	26.48%
2(1 $\mu$ mol/L)	14.42%	88.90%			

注:“GA”表示阳性对照甘草次酸。

Note: “GA” is the positive control glycyrrhetic acid.

由表 1 可知,化合物 2 对人 11 $\beta$ -HSD1 有明显的抑制作用,进一步测定该化合物对 11 $\beta$ -HSD1 抑制作用的 IC<sub>50</sub> 值和对人 11 $\beta$ -HSD2 的抑制率,结果见表 2。

(s, C-8a), 132.2 (s, C-1'), 115.2 (d, C-2'), 146.2 (s, C-3' and C-4'), 116.1 (d, C-5'), 120.2 (d, C-6')。以上数据与文献<sup>[18,19]</sup>报道一致,故该化合物鉴定为 *epi*-catechin。

### 3.2 化合物 2~5 抗糖尿病活性

#### 3.2.1 GK 体外活性筛选

化合物 2~5 对人 GK 激动作用筛选实验重复 3 次,结果表明,1  $\mu$ mol/L 的阳性对照 PSN-GK1 可使 GK 活性增加至溶剂对照组的 2.63 倍,而化合物 2~5 在浓度为 10  $\mu$ mol/L 时,仅使其活性增加至对照组的 0.79~1.11 倍,因此,受试化合物无明显的 GK 激动活性。

#### 3.2.2 化合物对人 SIRT1 激动剂体外活性筛选

上述化合物对人 SIRT1 的激动作用筛选试验重复 2 次,结果表明,200  $\mu$ mol/L 的阳性对照 RSV 可使 SIRT1 活性增加至溶剂对照组的 10.51 倍,而上述化合物在相同浓度时,仅使其活性增加至对照组的 0.82~1.00 倍,因此,受试化合物均不具有显著的 SIRT1 激动活性。

#### 3.2.3 化合物体外抑制 DPPIV 活性筛选

测定上述化合物对 DPPIV 的抑制作用,结果表明,0.1  $\mu$ mol/L 的阳性对照 MK0431 有很强的抑制作用,其比活力值为 25.2%;受试化合物浓度为 10  $\mu$ mol/L 时,其比活力值为 97.67~103.96%,表明上述化合物对 DPPIV 均无激动活性。

#### 3.2.4 化合物体外抑制 11 $\beta$ -HSD 活性筛选

测定上述化合物对 11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶(11 $\beta$ -HSD)的抑制活性,结果见表 1。

经测定,化合物 2 对人 11 $\beta$ -HSD1 的 IC<sub>50</sub> 为 94.15 nmol/L。从表 2 可知,该化合物对人 11 $\beta$ -HSD1 具有显著的抑制作用,当其剂量为 1 mmol/L 时对人 11 $\beta$ -HSD2 的抑制率低于 50%,提示该化合

表2 化合物2对人 $11\beta$ -HSD1和 $11\beta$ -HSD2的抑制率( $X \pm SD, n = 2$ )Table 2 The inhibition activity of compounds 2 against human  $11\beta$ -HSD1 and  $11\beta$ -HSD2 ( $X \pm SD, n = 2$ )

化合物及浓度 Concentration of compounds	均值 Means	标准差 SD	化合物及浓度 Concentration of compounds	均值 Means	标准差 SD
	$11\beta$ -HSD1	2(0.3 $\mu$ mol/L)	69.02%	6.79%	
GA(1 nmol/L)	10.02%	6.53%	2(1 $\mu$ mol/L)	74.27%	1.22%
GA(10 nmol/L)	42.09%	2.18%		$11\beta$ -HSD2	
GA(100 nmol/L)	81.53%	1.45%	GA(0.01 nmol/L)	10.17%	1.04%
2(0.01 $\mu$ mol/L)	24.85%	4.58%	GA(0.1 nmol/L)	31.79%	4.76%
2(0.03 $\mu$ mol/L)	34.98%	3.49%	GA(1 nmol/L)	56.83%	3.98%
2(0.1 $\mu$ mol/L)	45.43%	4.10%	2(1 mmol/L)	9.42%	10.85%

注：“GA”表示阳性对照甘草次酸。

Note: “GA” is the positive control glycyrrhetic acid.

物对人 $11\beta$ -HSD2有良好的选择性。

致谢:本实验体外抗糖尿病活性测试由中国科学院上海药物研究所内分泌组完成。

## 参考文献

- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010. Vol I, 141.
- Vijayanand S, Wesely EG. Evaluation of antidiabetic activity of *Melia azadirach* on alloxan induced diabetic rats. *Int J Curr Pharm Res*, 2011, 3:37-40.
- Wang JH(汪建辉), Ou Y(欧瑜). Glucokinase and diabetes. *Pharm Biotechnol*(药物生物技术), 2012, 19:552-556.
- Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activations of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature*, 2007, 450:712-716.
- Li WB(李文斌), Cui MY(崔美玉), Xu DM(许冬梅), et al. Correlation of dipeptidyl peptidase IV enzyme activity with diabetic nephropathy. *J Shandong Univ, Health Sci*(山东大学学报,医学版), 2010, 48:12-14.
- Morton NM, Holmes MC, Fiévet C, et al. Improved lipid and lipoprotein profile, hepatic insulin sensitivity, and glucose tolerance in  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 null mice. *J Biol Chem*, 2001, 276:41293-41300.
- Wu CF(吴酬飞). Establishment of a hypoglycemic agents screening method based on human pancreatic glucokinase. Nanchang: Nanchang University(南昌大学), MSc. 2009.
- Jiang HX(江慧贤), Luo C(罗超), Lu JX(卢钧雄), et al. Construction of screening model for dipeptidyl peptidase IV *in vitro* and active inhibitory estimation of related compounds. *China J Exp Tradit Med Formulae*(中国实验方剂学杂志), 2012, 18:210-214.
- Daniela S, Evelyne MM, Christian L, et al. The discovery of new  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors by common feature pharmacophore modeling and virtual screening. *J Med Chem*, 2006, 49:3454-3466.
- Zhao CC(赵春超), Wang JH(王金辉), Li W(李文), et al. Studies on the chemical constituents of fructus *Ailanthis altissimae*. *Chin J Med Chem*(中国药物化学杂志), 2003, 13:211-214.
- Fuchino H, Satoh T, Tanaka N. Chemical evaluation of *Betula* species in Japan. I. Constituents of *Betula ermanii*. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43:1937-1942.
- Jayasinghe ULB, Vithana HSK, Wannigama GP, et al. 24-Methylenecycloartenone from *Bhesa nitidissima*. *Fitoterapia*, 2001, 72:594-595.
- Zeng L, Gu ZM, Fang XP, et al. Two new bioactive triterpenoids from *Melia volkensii* (Meliaceae). *Tetrahedron*, 1995, 51:2477-2488.
- Takeya K, Qiao ZS, Hirobe C, et al. Cytotoxic azadirachtin-type limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, 1996, 42:709-712.
- Kouam SF, Ngadjui BT, Krohn K, et al. Prenylated anthronoid antioxidants from the stem bark of *Harungana madagascariensis*. *Phytochemistry*, 2005, 66:1174-1179.
- Bazin MA, Lamer ACL, Delcros JG, et al. Synthesis and cytotoxic activities of usnic acid derivatives. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16:6860-6866.
- Behrens U, Hencken G, Kopf J. Usnic acid,  $C_{18}H_{16}O_7$ . *Cryst Struct Commun*, 1976, 5:51-56.
- Waterman PG, Faulkner DF. (-)-Epiafszelechin from the root bark of *Cassia sieberiana*. *Planta Med*, 1979, 37:178-179.
- Hwang BY, Kim HS, Lee JH, et al. Antioxidant benzoylated flavan-3-ol glycoside from *Celastrus orbiculatus*. *J Nat Prod*, 2001, 64:82-84.