

苦楝中的三萜类和甾体成分及其抗糖尿病活性研究

谭钦刚^{1*}, 赖春华¹, 张贵杰¹, 陈毅飞¹, 王恒山²

1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004

2. 广西师范大学, 广西 桂林 541004

摘要: 目的 研究苦楝 *Melia azedarach* 皮的化学成分及其抗糖尿病活性。方法 运用正相、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鉴定结构, 并测试所得化合物体外对葡萄糖激酶 (GK)、组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 激动活性和二肽基肽酶 IV (DPPIV)、11 β -羟基类固醇脱氢酶 (11 β -HSD) 的抑制活性。结果 从苦楝皮甲醇提取物中分离得到 6 个三萜和 3 个甾体化合物, 分别鉴定为 meliastatin 3 (1)、苦楝酸 (2)、苦楝萜酮内酯 (3)、sendanolactone (4)、南岭楝酮 B (5)、20, 24-环甘遂烷-7(8)-烯-16 β , 21 α , 25-三羟基-3-酮 (6)、3 β -羟基-5, 8-环氧麦角甾-6, 22-二烯 (7)、2 β , 3 β , 4 β -三羟基-孕甾-16-酮 (8)、3 β -羟基-孕甾-5, 17(20)-二烯-16-酮 (9)。化合物 2 对人 11 β -HSD1 的 IC₅₀ 值为 54.15 nmol/L。结论 化合物 6~9 为首次从该植物中分离得到, 受试化合物 1~4 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 β -HSD 具有良好的选择性。

关键词: 苦楝; 三萜; 甾体; 葡萄糖激酶; SIRT1; 二肽基肽酶 IV; 11 β -羟基类固醇脱氢酶

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)07-0913-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.07.004

Triterpenoids and sterols from *Melia azedarach* and their anti-diabetes activities

TAN Qin-gang¹, LAI Chun-hua¹, ZHANG Gui-jie¹, CHEN Yi-fei¹, WANG Heng-shan²

1. Guilin Medical University, Guilin 541004, China

2. Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the barks of *Melia azedarach* and their antidiabetes activities. **Methods** The constituents were isolated and purified by silica gel, reverse phase silica gel, and Sephadex LH-20 column chromatography, and their structures were identified by spectra and physiochemical characteristic analysis. The agonist activities of the isolated triterpenoids against glucokinase (GK) and SIRT1, and the inhibitory activity against dipeptidyl peptidases IV (DPPIV), and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD) were tested *in vitro*. **Results** Six triterpenoids and three sterols were obtained from MeOH extract in the barks of *M. azedarach* and were elucidated as meliastatin 3 (1), kulonic acid (2), kulactone (3), sendanolactone (4), dubione B (5), 20, 24-cyclotirucalla-7(8)-en-16 β , 21 α , 25-trihydroxy-3-one (6), 3 β -hydroxy-5, 8-epidioxy-ergosta-6, 22-diene (7), 2 β , 3 β , 4 β -trihydroxy-pregn-16-one (8), and 3 β -hydroxy-pregn-5, 17(20)-dien-16-one (9). Compound 2 showed the inhibitory activity against 11 β -HSD1 with the IC₅₀ value of 54.15 nmol/L. **Conclusion** Compounds 6—9 are obtained from this species for the first time. The tested compounds 1—4 are inactive against GK, SIRT1, and DPPIV, but compound 2 shows high selectivity against human 11 β -HSD.

Key words: *Melia azedarach* L.; triterpenoids; sterols; glucokinase; SIRT1; dipeptidyl peptidases IV; 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase

糖尿病作为全球性的公共卫生问题, 发病原因复杂, 某些酶与其发生发展密切相关, 如葡萄糖激酶 (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^[1], 组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 激动剂可改善肥胖糖尿病大鼠的

胰岛素敏感性^[2], 二肽基肽酶 IV (DPPIV) 的活性增高与糖尿病的发生存在相关性^[3], 抑制 11 β -羟基类固醇脱氢酶 (11 β -HSD) 的活性可使糖尿病患者的代谢作用正常等^[4]。苦楝 *Melia azedarach* L. 为楝科 (Meliaceae) 楝属 *Melia* Linn. 植物, 我国黄河

收稿日期: 2013-12-25

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

作者简介: 谭钦刚 (1977—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: qgtan77@gmail.com

以南均有分布^[5]。苦楝皮因其良好的药理活性曾收载于2010年《中国药典》一部^[6]。目前从苦楝中发现的化合物类型有酚性成分^[7]、萜类^[8]、甾体及新木脂素等^[9]。研究表明,苦楝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^[10],为了更加深入研究苦楝皮的化学成分及抗糖尿病活性,本课题组对购自云南昆明的苦楝皮甲醇提取物的化学成分进行了研究,共分离得到6个三萜化合物和3个甾体化合物,分别鉴定为meliastatin 3 (**1**)、苦楝酸(kulonic acid, **2**)、苦楝萜酮内酯(kulactone, **3**)、sendanolactone (**4**)、南岭楝酮B(dubione B, **5**)、20,24-环甘遂烷-7(8)-烯-16 β ,21 α ,25-三羟基-3-酮[20,24-cyclotirucalla-7(8)-en-16 β ,21 α ,25-trihydroxy-3-one, **6**]、3 β -羟基-5,8-环氧麦角甾-6,22-二烯(3 β -hydroxy-5,8-epidioxy-ergosta-6,22-diene, **7**)、2 β ,3 β ,4 β -三羟基-孕甾-16-酮(2 β ,3 β ,4 β -trihydroxy-pregn-16-one, **8**)、3 β -羟基-孕甾-5,17(20)-二烯-16-酮[3 β -hydroxy-pregn-5,17(20)-dien-16-one, **9**]。其中,化合物**6**~**9**为首次从该植物中分离得到。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,受试化合物**1**~**4**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 β -HSD具有良好的选择性。

1 仪器与材料

VG Auto Spec—3000 质谱仪(英国VG公司);Bruker AM—400 或 DRX—500 核磁共振仪(德国Bruker公司);酶标仪(SpectraMax 190, Molecular Device, USA);PHS—3TC 型精密数显 pH 计(上海天达仪器有限公司);薄层色谱检测用 UV—210 紫外分光光度计。柱色谱硅胶(200~300 目),GF₂₅₄ 薄层板为青岛海洋化工厂生产;RP₁₈(40~65 μ m)为德国 Merck 公司产品;Sephadex LH-20(40~70 μ m)为瑞典 Pharmacia 公司产品;薄层色谱用 10% 的硫酸-乙醇溶液(加热)检测。

体外活性测试用阳性对照物 PSN-GK1、磷酸西他列汀(MK0431, 相对分子质量 505)、白藜芦醇(RSV)、甘草次酸购自 Sigma 公司;小鼠或人 11 β -HSD 基因购自 NIH Mammalian Gene Collection;GK 重组表达酶来源于人胰岛,重组表达 SIRT1 来源于人。

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

2 实验方法

2.1 提取与分离

苦楝皮干燥品(10 kg)粉碎,用 95%乙醇 60 L 加热回流提取 3 次,滤液减压回收得提取物 570 g,水分散后用醋酸乙酯提取 3 次,得醋酸乙酯提取物 260 g,上硅胶柱色谱,用氯仿-丙酮(1:0 $\rightarrow$ 1:1)梯度洗脱,得到 7 个组分 Fr. I~VII。Fr. II 经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(10:1 $\rightarrow$ 4:1)梯度洗脱,再经甲醇重结晶,得化合物 **3**(676 mg)、**5**(11.0 mg)。Fr. III 经 RP₁₈ 柱色谱,以甲醇-水(8:2 $\rightarrow$ 10:0)梯度洗脱,以 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇 1:1)分离,甲醇重结晶,得化合物 **4**(328.8 mg)、**6**(21.8 mg)。Fr. IV 经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(5:1 $\rightarrow$ 1:1)梯度洗脱,再经 RP₁₈ 柱色谱,以甲醇-水(7:3 $\rightarrow$ 10:0)梯度洗脱,甲醇重结晶,得化合物 **7**(24.5 mg)。Fr. V 经 RP₁₈ 柱色谱,以甲醇-水(5:5 $\rightarrow$ 10:0)梯度洗脱,甲醇重结晶,得化合物 **1**(213.0 mg)、**2**(51.2 mg)。Fr. VI 经硅胶柱色谱,以氯仿-丙酮(15:1 $\rightarrow$ 8:1)梯度洗脱,再经 RP₁₈ 柱色谱,以甲醇-水(4:6 $\rightarrow$ 10:0)梯度洗脱,得化合物 **8**(17.2 mg)、**9**(20.5 mg)。

2.2 化合物 1~4 抗糖尿病体外活性研究

2.2.1 GK 活性筛选 按文献报道^[11]的酶偶联分析法,用酶标仪测定产物 NADPH 在 340 nm 处吸光度(A)值的增加,计算其比活值。

2.2.2 SIRT1 体外活性筛选 按文献报道^[11]的酶偶联分析法,检测特定波长下去乙酰化底物的荧光值(激发光波长 360 nm,发射光波长 460 nm),计算激活倍数。

2.2.3 DPPIV 体外活性筛选 取 5 μ L 正常小鼠血清,加入 1 μ L 10 μ mol/L 的待测化合物及 44 μ L MgCl₂ 缓冲液,混匀后室温中预孵 5 min,然后加入 10 μ L 0.1 mmol/L 反应底物以及 40 μ L 缓冲液,避光,混匀后每间隔 3 min 进行一次荧光测定(激发光波长 380 nm/发射光波长 460 nm),直到 18 min,共测 6 次,根据测定结果绘制时间-荧光值曲线,斜率为活力值,以空白血清 DPPIV 活力值为 100%,计算待测化合物的 DPPIV 比活力值。

2.2.4 11 β -HSD 体外活性筛选 将小鼠或人 11 β -HSD1 基因序列克隆至 PcDNA3-VSVtag 真核表达载体,经限制性酶切及 DNA 测序验证后转染于 HEK293 细胞,经 G418(0.75 g/L)筛选后获得稳定转染的混合细胞克隆。胰酶消化混合细胞克隆并

以单细胞接种 96 孔培养板,同时给予条件性细胞培养液,经 14~20 d 后获得单细胞增殖克隆。扩增后胰酶消化收集细胞,超声破碎后离心(4 °C、1 500 r/min, 10 min),上清液再次离心(4 °C、10 000 r/min, 1 h),磷酸盐缓冲液(40 mmol/L Na₂HPO₄, 1 mmol/L EDTA, 5%甘油)重悬沉淀后获得的小鼠或人 11 β -HSD1 纯化酶,-80 °C冻存备用。采用液闪接近测定技术测定待测化合物对小鼠或人 11 β -HSD 的抑制作用。

3 实验结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 无色针状结晶(甲醇)。FAB-MS m/z : 517 [M+H]⁺, 分子式 C₃₁H₄₈O₆。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.14 (1H, s, COOH), 5.59 (1H, m, H-23), 5.55 (1H, m, H-24), 5.28 (1H, d, J = 3.1 Hz, H-7), 3.96 (1H, m, H-16), 3.64 (3H, s, -OCH₃), 1.27 (3H, s, H-26), 1.26 (3H, s, H-27), 1.25 (3H, s, H-30), 1.08 (3H, s, H-29), 1.01 (3H, s, H-28), 0.99 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 1 为 meliastatin 3。

化合物 2: 无色棱柱状结晶(甲醇)。FAB-MS m/z : 469 [M-H]⁻, 分子式 C₃₀H₄₆O₄。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.28 (1H, m, H-7), 5.06 (1H, t, J = 6.9 Hz, H-24), 4.10 (1H, t, J = 6.7 Hz, H-16), 1.69 (3H, s, H-26), 1.57 (3H, s, H-27), 1.23 (3H, s, H-30), 1.10 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 2 为苦楝酸。

化合物 3: 无色针状结晶(甲醇)。EI-MS m/z : 452 [M]⁺, 分子式 C₃₀H₄₄O₃。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.32 (1H, m, H-7), 5.09 (1H, t, J = 6.7 Hz, H-24), 4.14 (1H, m, H-16), 1.68 (3H, s, H-26), 1.60 (3H, s, H-27), 1.23 (3H, s, H-30), 1.10 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-28), 1.01 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 3 为苦楝萜酮内酯。

化合物 4: 无色棱柱状结晶(甲醇)。EI-MS m/z : 466 [M]⁺, 分子式 C₃₀H₄₂O₄。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.77 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-7), 5.08 (1H, t, J = 6.7 Hz, H-24), 4.15 (1H, m, H-16), 1.68 (3H, s,

H-26), 1.60 (3H, s, H-27), 1.35 (3H, s, H-29), 1.33 (3H, s, H-28), 1.30 (3H, s, H-30), 1.01 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 4 为 sendanolactone。

化合物 5: 无色针状结晶(甲醇)。EI-MS m/z : 468 [M]⁺, 分子式 C₃₀H₄₄O₄。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.35 (1H, t, J = 3.2 Hz, H-7), 5.08 (1H, s, H-26), 4.98 (1H, s, H-26), 4.82 (1H, s, 16-OH), 4.74 (1H, dd, J = 11.5, 3.0 Hz, H-24), 3.99 (1H, dd, J = 8.5, 4.9 Hz, H-16), 1.80 (3H, s, H-27), 1.32 (3H, s, H-30), 1.12 (3H, s, H-29), 1.04 (3H, s, H-28), 1.02 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 5 为南岭楝酮 B。

化合物 6: 无色针状结晶(甲醇)。ESI-MS m/z : 471 [M-H]⁻, 分子式 C₃₀H₄₈O₄。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.31 (1H, t, J = 3.1 Hz, H-7), 4.51 (1H, s, 25-OH), 4.19 (1H, m, H-16), 3.92 (1H, d, J = 2.6 Hz, 16-OH), 3.80 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-21), 1.23 (3H, s, H-30), 1.21 (3H, s, H-26), 1.20 (3H, s, H-27), 1.05 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 6 为 20, 24-环甘遂烷-7(8)-烯-16 β , 21 α , 25-三羟基-3-酮。

化合物 7: 无色针状结晶(甲醇)。EI-MS m/z : 428 [M]⁺, 分子式 C₂₈H₄₄O₃。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.58 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-7), 6.22 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 5.18 (1H, dd, J = 15.2, 7.3 Hz, H-23), 5.11 (1H, dd, J = 15.0, 7.2 Hz, H-22), 3.94 (1H, m, H-3); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 7 为 3 β -羟基-5, 8-环氧麦角甾-6, 22-二烯。

化合物 8: 无色针状结晶(甲醇)。FAB-MS m/z : 349 [M-H]⁻, 分子式 C₂₁H₃₄O₄。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 4.15 (1H, brs, H-2), 3.85 (1H, brs, H-4), 3.53 (1H, brs, H-3), 1.26 (3H, s, H-19), 1.02 (3H, d, J = 7.4 Hz, H-21), 0.70 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 43.0 (C-1), 71.8 (C-2), 72.1 (C-3), 77.0 (C-4), 50.4 (C-5), 25.6 (C-6), 32.3 (C-7), 33.9 (C-8), 56.7 (C-9), 34.9 (C-10), 20.1 (C-11), 38.1 (C-12), 42.1 (C-13), 50.4 (C-14), 38.4 (C-15), 219.4

表1 化合物1~7的¹³C-NMR数据
Table 1 ¹³C-NMR data of compounds 1—7

碳位	1	2	3	4	5	6	7
1	38.4	38.4	38.2	37.3	38.5	38.4	34.6
2	34.8	34.8	34.7	33.8	34.9	34.9	30.0
3	216.8	216.7	216.3	214.2	216.7	217.1	66.5
4	47.9	47.8	47.8	47.1	47.9	47.8	36.8
5	52.3	52.3	52.5	65.7	52.4	52.4	82.1
6	24.3	24.3	26.0	197.7	24.5	24.3	135.3
7	118.5	118.5	118.4	124.6	118.7	118.4	130.9
8	144.4	144.6	143.4	167.5	144.4	145.0	79.3
9	47.8	47.9	47.8	49.2	48.0	47.8	51.0
10	35.0	35.0	35.4	43.8	35.0	35.1	37.1
11	17.9	18.0	24.3	16.6	18.1	17.9	23.4
12	32.9	33.1	29.2	28.9	33.5	32.2	39.3
13	45.4	45.3	39.7	39.3	45.8	45.8	44.3
14	49.7	49.7	55.1	56.0	49.9	49.1	51.6
15	44.5	44.9	35.6	34.9	43.9	44.5	20.6
16	77.0	76.9	82.4	81.4	77.6	77.3	28.6
17	57.9	58.5	58.1	57.6	58.1	60.8	56.3
18	23.5	23.2	21.4	21.3	23.2	22.9	12.9
19	12.7	12.7	12.4	13.5	12.8	12.7	18.3
20	47.9	47.9	45.4	45.2	41.9	47.6	39.7
21	177.0	180.5	180.6	179.8	178.1	80.4	20.9
22	34.2	30.7	29.6	29.1	22.8	23.2	135.2
23	127.2	25.9	26.0	25.9	26.0	25.6	132.3
24	136.6	123.4	123.3	123.1	79.9	54.0	42.8
25	81.8	132.4	132.6	132.9	141.5	74.1	33.0
26	24.4	17.7	17.8	17.9	113.6	23.5	19.8
27	24.2	25.7	25.6	25.6	18.0	30.5	19.6
28	24.3	24.3	24.4	25.1	24.5	24.5	17.6
29	21.5	21.5	21.5	21.6	21.5	21.6	
30	27.7	27.8	32.2	29.6	27.4	28.5	
OCH ₃	51.8						

(C-16), 65.3 (C-17), 13.4 (C-18), 17.2 (C-19), 17.6 (C-20), 13.5 (C-21)。以上数据与文献报道一致^[17], 故化合物 **8** 鉴定为 2β, 3β, 4β-三羟基-孕甾-16-酮。

化合物 **9**: 无色针状结晶(甲醇-水 5 : 1)。EI-MS m/z : 314 [M]⁺, 分子式 C₂₁H₃₀O₂。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.44 (1H, m, H-20), 5.34 (1H, d, J = 4.9 Hz, H-6), 3.53 (1H, m, H-3), 1.82 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 1.05 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 42.2 (C-1), 49.7 (C-2), 71.5 (C-3), 49.9 (C-4), 147.7 (C-5), 129.4 (C-6), 32.4 (C-7), 33.8 (C-8), 54.0 (C-9), 36.0 (C-10),

20.7 (C-11), 37.9 (C-12), 42.2 (C-13), 50.2 (C-14), 38.6 (C-15), 206.4 (C-16), 140.9 (C-17), 13.2 (C-18), 17.3 (C-19), 120.9 (C-20), 19.4 (C-21)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **9** 为 3β-羟基-孕甾-5, 17(20)-二烯-16-酮。

3.2 化合物 1~4 抗糖尿病活性

3.2.1 GK 体外活性筛选 化合物对人 GK 激动作用筛选实验重复 3 次, 以 1% DMSO 为溶剂对照, PSN-GK1 为阳性对照, 结果表明(表 2), 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, 以 1% DMSO 为溶剂对照, RSV 为阳性对照, 结果表明 (表 3) 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 以 MK0431 为阳性对照, 测定化合物对 DPPIV 的抑制作用, 结果表明 (表 4), 受试化合物均不具有显著

的 DPPIV 激动活性。

3.2.4 化合物体外抑制 11 β -HSD 活性筛选 以甘草次酸为阳性对照, 测定化合物对 11 β -HSD 的抑制活性, 结果见表 5。可知, 化合物 2 对人 11 β -HSD1 有明显的抑制作用, 进一步测定该化合物对 11 β -HSD1 及 11 β -HSD2 的抑制率, 结果见表 6、7。

表 2 化合物 1~4 激动人胰岛 GK 活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Agonist activity of compounds 1—4 against GK in human pancreatic islet ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	剂量 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	比活值	化合物	剂量 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	比活值
1%DMSO	—	1.00 $\pm$ 0.00	1	10	1.01 $\pm$ 0.03
PSN-GK1	0.01	1.17 $\pm$ 0.02	2	10	0.99 $\pm$ 0.01
PSN-GK1	0.1	1.93 $\pm$ 0.03	3	10	0.97 $\pm$ 0.01
PSN-GK1	1	2.63 $\pm$ 0.04	4	10	1.10 $\pm$ 0.04

表 3 化合物 1~4 激动人胰岛 SIRT1 活性 ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

Table 3 Agonist activity of compounds 1—4 against SIRT1 in human pancreatic islet ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

化合物	剂量 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	比活值	化合物	剂量 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	比活值
1%DMSO	—	1.00 $\pm$ 0.00	1	200	0.64 $\pm$ 0.07
RSV	50	4.93 $\pm$ 0.27	2	200	1.07 $\pm$ 0.08
RSV	100	8.41 $\pm$ 0.51	3	200	0.95 $\pm$ 0.01
RSV	200	10.51 $\pm$ 0.08	4	200	0.87 $\pm$ 0.13

表 4 化合物 1~4 抑制 DPPIV 活性

Table 4 Inhibition of compounds 1—4 against DPPIV activity

化合物	剂量 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	比活力值 / %	化合物	剂量 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	比活力值 / %
MK0431	0.1	25.20	3	10	98.84
1	10	104.35	4	10	111.43
2	10	93.13			

表 5 化合物 1~4 对小鼠和人 11 β -HSD1 型酶抑制率

Table 5 Inhibitory rates of compounds 1—4 against 11 β -HSD1 in mice and human

化合物	剂量 / ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	抑制率 / %		化合物	剂量 / ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	抑制率 / %	
		小鼠 HSD1	人 HSD1			小鼠 HSD1	人 HSD1
甘草次酸	1	19.92	16.36	2	1 000	15.24	89.47
	10	48.67	47.06	3	1 000	15.18	41.07
	100	80.25	84.73	4	1 000	14.71	41.12
	1 000	28.31	49.90				

表 6 化合物 2 对人 11 β -HSD1 的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

Table 6 Inhibitory rate of compound 2 against human 11 β -HSD1 ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

化合物	剂量 / ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	抑制率 / %
甘草次酸	1	10.02 $\pm$ 6.53
	10	42.09 $\pm$ 2.18
	100	81.53 $\pm$ 1.45
	10	19.10 $\pm$ 5.85
	30	33.77 $\pm$ 3.17
	100	57.41 $\pm$ 6.80
	300	65.72 $\pm$ 3.30
2	1 000	88.47 $\pm$ 0.40

表 7 化合物 2 对人 11 β -HSD2 的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

Table 7 Inhibitory rate of compound 2 against human 11 β -HSD2 ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

化合物	剂量 / ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	抑制率 / %
甘草次酸	0.01	10.17 $\pm$ 1.04
	0.1	31.79 $\pm$ 4.76
	1	56.83 $\pm$ 3.98
2	1	20.38 $\pm$ 2.10

经测定, 化合物 **2** 对人 11 β -HSD1 的 IC₅₀ 为 54.15 nmol/L。从表 6 可知, 该化合物对人 11 β -HSD1 具有显著的抑制作用, 当其剂量为 1 mmol/L 时对人 11 β -HSD2 的抑制率低于 50%, 提示该化合物对人 11 β -HSD2 有良好的选择性。

4 讨论

糖尿病以慢性高血糖症和其他代谢异常为特征, 严重危害人的健康和生命, 已成为全球性的公共健康问题, 因此, 从植物中寻找预防和治疗糖尿病的天然药物正成为一种有效方法和手段。本实验进一步丰富了苦楝的化学成分, 体外抗糖尿病活性研究表明, 受试化合物均未表现出 GK、SIRT1 体外激动活性和 DPPIV 抑制活性, 其中化合物 **2** 对人 11 β -HSD 具有良好的选择性, 化合物 **1** 和 **2** 的活性差异可初步推断为 C-25 的氧化程度不同所引起, 本研究为进一步研究和开发苦楝提供了理论依据。

参考文献

- [1] 汪建辉, 欧 瑜. 葡萄糖激酶与糖尿病 [J]. 药物生物技术, 2012, 19(6): 552-556.
- [2] Milne J C, Lambert P D, Schenk S, *et al.* Small molecule activations of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2007, 450(7170): 712-716.
- [3] 李文斌, 崔美玉, 许冬梅, 等. 二肽基酶 IV 酶活性与糖尿病肾病的相关性 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2010, 48(3): 12-14.
- [4] Morton N M, Holmes M C, Fiévet C, *et al.* Improved lipid and lipoprotein profile, hepatic insulin sensitivity, and glucose tolerance in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 null mice [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(44): 41293-41300.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [7] Aoudia H, Ntalli N, Aissani N, *et al.* Nematotoxic phenolic compounds from *Melia azedarach* against *Meloidogyne incognita* [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(47): 11675-11680.
- [8] Faizi S, Wasi A, Siddiqui B S, *et al.* New terpenoids from the roots of *Melia azedarach* [J]. *Aust J Chem*, 2002, 55(4): 291-296.
- [9] 韩 玖, 汪文陆. 苦楝化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1991, 26(6): 426-429.
- [10] Vijayanand S, Wesely E G. Evaluation of antidiabetic activity of *Melia azadirach* on alloxan induced diabetic rats [J]. *Int J Curr Pharm Res*, 2011, 3(4): 37-40.
- [11] 吴酬飞. 以人胰葡萄糖激酶为靶的降糖活性因子筛选平台的建立 [D]. 南昌: 南昌大学, 2009.
- [12] Pettit G R, Numata A, Iwamoto C, *et al.* Antineoplastic agents. 489. isolation and structures of meliastatins 1-5 and related euphane triterpenes from the tree *Melia dubia* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(12): 1886-1891.
- [13] Chiang C K, Chang F C. Tetracyclic triterpenoids from *Melia azedarach* L. -III [J]. *Tetrahedron*, 1973, 29(14): 1911-1929.
- [14] Siddiqui S, Siddiqui B S, Ghiasuddin, *et al.* Tetracyclic triterpenoids of the fruit coats of *Azadirachta indica* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(2): 408-415.
- [15] 桑已署, 周春燕. 新的川楝皮提取物: 中国, CN101235066 [P]. 2008-08-06.
- [16] Adler J H, Young M, Nes W R. Determination of the absolute configuration at C-20 and C-24 of ergosterol in ascomycetes and basidiomycetes by proton magnetic resonance spectroscopy [J]. *Lipids*, 1977, 12(4): 364-366.
- [17] Ketwaru P, Klass J, Tinto W F, *et al.* Pregnane steroids from *Trichilia schomburgkii* [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(3): 430-431.
- [18] Ilyukhina T V, Kamernitzkii A V, Voznesenskaya I I. Transformed steroids-65: Mechanism of the rearrangement of steroid oxiranes by treatment with Grignard reagents [J]. *Tetrahedron*, 1974, 30(14): 2239-2243.