

· 基础研究 ·

潺槁树根皮化学成分及其抗糖尿病靶点筛选研究[△]吴悠楠¹, 董琳¹, 李祎莹², 谭银丰¹, 金燕¹, 李友宾^{1*}, 张小坡^{1*}

(1. 海南医学院药学院, 海南 海口 571199; 2. 海南医学院基础医学与生命科学学院, 海南 海口 571199)

[摘要] 目的: 对潺槁树根皮化学成分进行研究, 并探索化合物降糖作用靶点。方法: 采用硅胶、Sephadex LH-20 等柱色谱以及半制备 HPLC 进行分离, 选择 14 个与糖代谢相关靶点蛋白, 采用分子对接技术探索化合物降糖作用的靶点。结果: 从潺槁树根皮中得到 6 个化合物, 经波谱学方法鉴定为 *N*-反式-阿魏酰酪胺(1)、*N*-顺式-阿魏酰酪胺(2)、*N*-反式-芥子酰酪胺(3)、锡兰肉桂醇(4)、波尔定碱(5)、新木姜子碱(6)。分子对接结果表明, 化合物 5、6 与蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP1B)结合度最高。结论: 化合物 1~4 为首次从该属植物分离得到, 化合物 5、6 可能通过调控 PTP1B 发挥功效。

[关键词] 潺槁树根皮; 化学成分; 降糖靶点

Chemical Constituents from Bark of *Litsea glutinosa* and Their Antidiabetic TargetsWU Younan¹, DONG Lin¹, LI Yiyi², TAN Yinfeng¹, JIN Yan¹, LI Youbin^{1*}, ZHANG Xiaopo^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Science, Hainan Medical University, Haikou, 571199, China;

2. School of Basic and Life Sciences, Hainan Medical University, Haikou, 571199, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents from the bark of *Litsea glutinosa* and to investigate their antidiabetic targets *in silico*. **Methods:** Silica gel and Sephadex LH-20 column chromatographies as well as semi-preparative HPLC were applied to isolate and purify the compounds. Molecular docking was used to evaluate the binding activities of the ligands and the 14 selected proteins. **Results:** Six compounds were obtained and identified as *N*-trans-feruloyltyramine (1), *N*-cis-feruloyltyramine (2), *N*-trans-sinapoyltyramine (3), cinnzeylanol (4), boldine (5), lauroilsine (6). Molecular docking results showed that compounds 5 and 6 banded well with PTP1B. **Conclusion:** Compounds 1-4 were isolated from genus *L. glutinosa* for the first time. Compounds 5 and 6 may exert their biological activities through regulating PTP1B.

[Keywords] Bark of *Litsea glutinosa*; chemical constituents; targets of hypoglycemia

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.7.010

潺槁树 *Litsea glutinosa* 系樟科 (Lauraceae) 木姜子属 (*Litsea*) 植物, 主产于海南、广西、广东等我国岭南地区。潺槁树作为民间药物, 具有清热解暑的功效^[1]。现代药理研究表明, 潺槁树根皮提取物具有抗糖尿病作用^[2]。化学成分研究表明, 该植物中含有生物碱、木脂素、黄酮类成分^[3-4]。为探索潺槁树根皮中抗糖尿病的活性成分, 本论文对潺槁树根皮的化学成分进行研究, 从中得到 6 个化合物, 分别鉴定为: *N*-反式-阿魏酰酪胺(1)、*N*-顺式-阿魏酰酪胺(2)、*N*-反式-芥子酰酪胺(3)、锡兰肉桂醇(4)、波尔定碱(5)、新木姜子碱(6)。化合物 1~4 首次从该属植物中分离得到。已有文献报道波尔定

碱、新木姜子碱具有降血糖作用^[5-6], 但未见其作用靶点的报道。本研究通过采用分子对接技术, 将两个化合物分别与 14 个与糖代谢相关的靶点进行分子对接。结果表明, 两个化合物与蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP1B) 对接打分最高, 提示波尔定碱、新木姜子碱可能通过调控 PTP1B 发挥功效。

1 仪器与材料

BRUKERAV III 600 型核磁共振仪; 超声清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); 薄层色谱预制板 (青岛海洋化工厂); 柱色谱硅胶 (100~200 目, 200~300 目, 青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Health-

[△] [基金项目] 国家自然科学基金 (81202994)

* [通信作者] 李友宾, 研究员, 研究方向: 南药黎药的开发, E-mail: liyoubinli@sohu.com; 张小坡, 教授, 研究方向: 南药黎药的开发, E-mail: z_xp1412@163.com

care 公司); LC-10AD 二元低压半制备液相色谱仪; Agilent 半制备色谱柱 (Phenyl, 25.0 cm × 2.5 mm, 5 μm); 普通试剂均为分析纯 (广州化学试剂厂); 氘代试剂 (中国科学院武汉波谱公司)。分子对接采用 Discovery Studio 4.5 软件 (BIOVIA 公司)。

所用药材于 2016 年 5 月采自海南省文昌市铜鼓岭, 经海南医学院曾念开教授鉴定为樟科木姜子属植物潺槁树 *Litsea glutinosa* 的根皮。

2 提取与分离

潺槁树根皮 (7.0 kg) 粉碎后, 用 70% 乙醇水回流提取, 提取 3 次, 每次 2 h。减压回收溶剂, 至无乙醇味。加水适量, 石油醚 (5 L) 萃取 3 次, 除去脂溶性成分, 继用正丁醇 (5 L) 萃取 3 次, 减压浓缩后得到正丁醇萃取物 (80 g)。正丁醇萃取物进行硅胶柱色谱分离, 采用二氯甲烷-甲醇 (1:0, 85:15, 80:20, 50:50) 梯度洗脱, 经合并后得到流分 Fr. A ~ Fr. H。Fr. A 采用硅胶柱色谱分离, 流动相为二氯甲烷-丙酮 (9:1), 再进行凝胶柱色谱, 流动相为甲醇, 最后经反相高效液相制备色谱分离, 流动相为甲醇-水 (65:35), 得到化合物 **1** (8.0 mg)、**2** (12.5 mg)、**3** (10.0 mg)。Fr. B 采用硅胶柱色谱分离, 流动相为二氯甲烷-丙酮 (85:15), 再进行凝胶柱色谱, 流动相为甲醇, 最后经反相高效液相制备色谱分离, 流动相为甲醇-水 (55:45), 得到化合物 **4** (8.6 mg)、**5** (535.5 mg)、**6** (628.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 碘化铯钾反应阳性, ESI m/z 314.2 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.26 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'), 7.10 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.96 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.93 (1H, dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz, H-6'), 6.75 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.65 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, 5), 6.38 (1H, $J = 15.6$ Hz, H-8'), 3.78 (3H, s, -OCH₃), 3.41 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7), 2.62 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.7 (C-9'), 156.0 (C-4), 148.8 (C-4'), 148.3 (C-3'), 139.3 (C-7'), 129.8 (C-2, 6), 129.5 (C-1), 121.9 (C-6'), 119.4 (C-8'), 116.0 (C-5'), 111.2 (C-2'), 115.6 (C-3, 5), 57.0 (-OCH₃), 41.0 (C-8), 34.4 (C-7)。以上数据与文献报道的一

致^[7], 故化合物 **1** 鉴定为 *N*-反式-阿魏酰酪胺, 为首次从该属植物分离得到。

化合物 **2**: 白色粉末, 碘化铯钾反应阳性, ESI m/z 314.4 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.94 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.93 (1H, dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz, H-6'), 6.68 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.63 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, 5), 6.45 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-7'), 5.70 (1H, $J = 11.2$ Hz, H-8'), 3.78 (3H, s, -OCH₃), 3.41 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7), 2.62 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.6 (C-9'), 156.0 (C-4), 147.8 (C-4'), 147.3 (C-3'), 137.3 (C-7'), 129.9 (C-2, 6), 128.6 (C-1), 126.7 (C-6'), 121.5 (C-8'), 115.2 (C-5'), 114.2 (C-2'), 115.6 (C-3, 5), 57.0 (-OCH₃), 41.0 (C-8), 34.3 (C-7)。以上数据与文献报道的一致^[8], 故化合物 **2** 鉴定为 *N*-顺式-阿魏酰酪胺, 为首次从该属植物分离得到。

化合物 **3**: 白色粉末, 碘化铯钾反应阳性, ESI m/z 328.5 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.27 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'), 6.98 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, s, H-2', 6'), 6.65 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, 5), 6.42 (1H, $J = 15.6$ Hz, H-8'), 3.75 (6H, s, -OCH₃), 3.41 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7), 2.62 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8)。以上数据与文献报道的一致^[9], 故化合物 **3** 鉴定为 *N*-反式-芥子酰酪胺, 为首次从该属植物分离得到。

化合物 **4**: 白色晶体, mp 138 ~ 140 °C, ESI m/z 407.1 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.85, 0.90, 0.92 (各 3H, $J = 6.6$ Hz, 19, 20, 15-CH₃), 0.75 (3H, s, 16-CH₃), 1.18 (3H, s, 17-CH₃), 3.67 (1H, dd, $J = 9.6, 3.6$ Hz, H-1), 1.68 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-14a), 2.28 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-14b), 1.61 (1H, d, $J = 13.2$ Hz, H-10a), 1.72 (1H, d, $J = 13.2$ Hz, H-10b), 1.80 (1H, m, H-18), 1.95 (1H, m, H-2); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 71.2 (C-1), 32.8 (C-2), 28.7 (C-3), 26.6 (C-4), 84.1 (C-5), 86.1 (C-6), 97.3 (C-7), 88.9 (C-8), 49.6 (C-9), 43.3 (C-10), 101.2 (C-11), 65.0 (C-12), 81.2 (C-13), 49.4 (C-14), 18.5 (C-15), 11.6 (C-16), 9.8 (C-17), 34.2

(C-18), 18.9 (C-19), 19.3 (C-20)。以上数据与文献报道一致^[10], 故化合物**4**鉴定为锡兰肉桂醇, 为首次从该属植物分离得到。

化合物**5**: 无定形粉末, 碘化铯钾阳性, ESI m/z 360.2 $[M + Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.84 (1H, s, H-11), 6.70 (1H, s, H-8), 6.48 (1H, s, H-3), 3.77 (3H, s, 10-OCH₃), 3.56 (3H, s, 1-OCH₃), 2.92 (1H, m, H-7a), 2.88 (1H, m, H-4b), 2.86 (1H, m, H-5a), 2.75 (1H, dd, $J=12.0, 2.0$ Hz, H-6a), 2.38 (3H, s, N-CH₃), 2.28 (1H, m, H-5b), 2.22 (1H, m, H-7b); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 149.5 (C-2), 146.5 (C-10), 146.3 (C-9), 143.0 (C-1), 130.1 (C-7a), 129.2 (C-3a), 126.6 (C-1a), 125.9 (C-1b), 123.2 (C-11a), 115.7 (C-8), 114.7 (C-3), 112.4 (C-11), 62.7 (C-6a), 53.3 (C-5), 59.7 (1-OCH₃), 56.2 (10-OCH₃), 44.2 (N-CH₃), 34.2 (C-7), 29.0 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[11], 故化合物**5**鉴定为波尔定碱。

化合物**6**: 结晶性粉末, 碘化铯钾阳性, mp 189 ~ 191 °C, ESI m/z 346.0 $[M + Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.86 (1H, s, H-11), 6.72 (1H, s, H-8), 6.54 (1H, s, H-3), 3.78 (1H, dd, $J=13.2, 3.6$ Hz, H-6a), 3.80 (3H, s, 10-OCH₃), 3.60 (3H, s, 1-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 153.4 (C-2), 149.8 (C-9), 148.8 (C-1), 146.3 (C-10), 128.8 (C-7a), 128.6 (C-3a), 128.4 (C-1b), 124.8 (C-1a), 122.1 (C-11a), 117.0 (C-8), 116.2 (C-11), 113.9 (C-3), 64.6 (C-6a), 61.2 (1-OCH₃), 56.8 (10-OCH₃), 42.6 (C-5), 34.9 (C-7), 28.8 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[12], 故化合物**6**鉴定为新木姜子碱。

4 靶点的准备与对接

查询国内外的文献报道选取与糖代谢相关的关键靶点作为研究对象, 分别有14个靶点, 包括: 过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α , IK71)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ , IK74)、磷脂酰肌醇-3激酶 (PI3K, 1E7V)、蛋白激酶A (PKA, 3L9L)、蛋白激酶B (AKT, 4EKL)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α , 2AZ5)、胰岛素受体底物1 (IRS1, IK3A)、胰岛素受体底物2 (IRS2, 3BU5)、磷酸腺苷活化蛋白激酶 α (AMPK α , 3AQV)、有丝分裂原

活化蛋白激酶 (MAPK, 4QNY)、促分裂原活化蛋白激酶2 (MEK2, 1TVO)、促分裂原活化蛋白激酶2 (MEK2, 1S9I)、细胞外调节蛋白激酶1 (ERK1, 2ZOQ)、抑癌基因 (LKB1, 2WTK)、蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP1B, 2QBQ), 括号内代表化合物的英文名称和PDB号。从蛋白质PDB结构数据库下载得到14个靶点的三维晶体结构并保存为PDB格式。利用Discovery Studio(4.5)软件Flexible Docking模块对靶点蛋白进行结构处理, 具体操作是提取配体去除水分子及其他配体为蛋白质加氢并进行能量优化选择, 其余参数均为默认设置。将每个化合物分别与14个靶点按默认参数进行分子对接。

5 分子对接结果

Flexible Docking模块先对蛋白活性口袋的侧链产生多个构象, 然后将配体对接到受体的活性口袋当中, 最后对得到的配体-受体复合物结构进行优化。Flexible Docking最大的优势在于准确, 可以精细地研究配体-受体的相互作用信息。通过将波尔定碱、新木姜子碱与14个靶点对接, 结果发现这两个化合物与PTP1B蛋白结合较好, 提示这些成分的功效可能与调控PTP1B密切相关。波尔定碱与PTP1B对接示意图见图1。

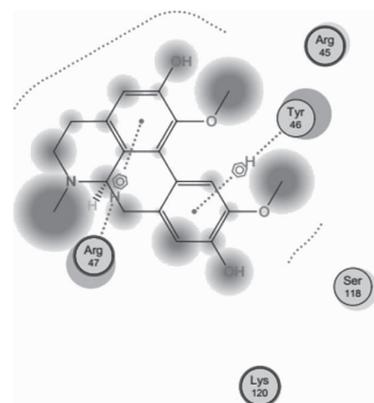
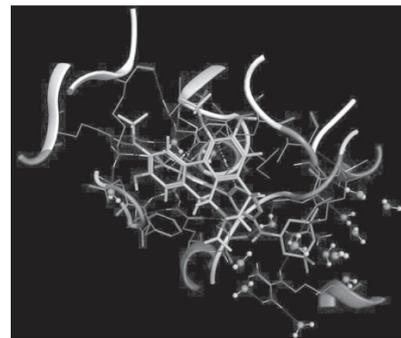


图1 波尔定碱与PTP1B蛋白结合示意图

6 讨论

本论文报道了从潺槁树根皮中分离得到6个化合物,其中4个为首次从该属植物分离得到。另外,文献报道波尔定碱、新木姜子碱具有抗糖尿病作用,然而它们的作用靶点并不清楚。通过采用分子对接的方法,首次发现这两个化合物与PTP1B对接程度最高。波尔定碱、新木姜子碱的抗糖尿病作用极可能与调控PTP1B相关。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999.
- [2] 张闯珍,王刃余,谢振家,等. 潺槁治疗糖尿病86例临床分析[J]. 福建中医药,1985,16(4):13-14.
- [3] Pan J Y,Zhang S,Wu J,et al. Litseaglutinan A and lignans from *Litsea glutinosa*[J]. *Helv Chim Acta*, 2010, 93: 951-957.
- [4] Wang Y S,Huang R,Lu H,et al. A new 2'-oxygenated flavone glycoside from *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob. [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*,2010,74(3):652-654.
- [5] Chi T S, Lee S S, Su M J. Antihyperglycemic effect of aporphines and their derivatives in normal and diabetic rats [J]. *Planta Med*,2006,72:1175-1180.
- [6] Lin C J, Chen C H, Liu F W, et al. Inhibition of intestinal glucose uptake by aporphines and secoaporphines [J]. *Life Sci*,2006,79:144-153.
- [7] 陈湛娟,刘秀萍,毕和平. 山苍子枝的化学成分研究[J]. 林产化学与化工,2013,33(4):97-100.
- [8] 余文怡,邓亮,李兰,等. 云南地方晾晒烟化学成分研究[J]. 昆明学院学报,2015,37(6):25-27.
- [9] 李云志,宫铮,马超,等. 豆瓣绿的酰胺类化学成分[J]. 中国中药杂志,2010,35(4):468-469.
- [10] 赵凯,姜勇,薛培凤,等. 国产肉桂的化学成分研究[J]. 中草药,2013,44(17):2358-2363.
- [11] 张水英,郭强,曹愿,等. 豆豉姜的生物碱类成分研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(20):3964-3968.
- [12] 张君增,方起程. 山檀化学成分的研究[J]. 中草药,1994,25(11):565-568.

(收稿日期 2016-11-14)

(上接第923页)

- [6] 白贞芳,刘勇,王晓琴. 列当属、肉苁蓉属和草苁蓉属植物传统药理学调查[J]. 中国中药杂志,2014,39(23):4548-4552.
- [7] 周溢,张继. 黄花列当的生药学研究[J]. 药物分析杂志,2007,27(11):1719-1721.
- [8] 杨来秀,王素巍,王晓琴,等. 列当的生药鉴别[J]. 华西药理学杂志,2015,30(1):54-55.
- [9] 陈士林,姚辉,宋经元,等. 基于DNA barcoding(条形码)技术的中药材鉴定[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2007,9(3):7-12.
- [10] 闫化学,于杰. DNA条形码技术在植物中的研究现状[J]. 植物学报,2010,45(1):102-108.
- [11] 曹永军,程萍,喻国辉. 利用ITS1和ITS4通用引物扩增香蕉枯萎病菌核酸片段鉴定其生理小种[J]. 热带作物学报,2010,31(7):1098-1102.
- [12] 郭鹏豪,刘秀丽,崔颖鹏. 真菌通用引物Its1和Its4在丝状真菌鉴定中的价值评价[J]. 中国微生物学杂志,2013,25(8):922-924.
- [13] 刘建全,陈之端,廖志新. “藏茵陈”原植物及其混淆种类的ITS序列比较[J]. 药学学报,2001,36(1):67-70.

(收稿日期 2016-10-08)