

香椿果抗补体活性成分

侯灵莉¹, 李松林², 闫银萍³, 孙黔云³, 杨庆雄^{1,2*}

(1. 贵州师范大学化学与材料科学学院, 贵阳 550001; 2. 贵州师范大学喀斯特研究院/国家喀斯特石漠化防治工程技术研究中心, 贵阳 550001; 3. 贵州省中科院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550001)

[摘要] 目的:研究香椿果抗补体活性成分。方法:采用溶血法进行抗补体活性筛选,然后利用溶剂萃取和多种色谱技术分离纯化,以¹H-NMR, ¹³C-NMR波谱方法,结合文献数据,鉴定化合物结构。结果:香椿果提取物具有显著抗补体活性,经溶剂萃取,其中乙酸乙酯部位为活性部位,从中分离得到14个化合物,分别鉴定为没食子酸(1),没食子酸甲酯(2),6-O-没食子酰基-葡萄糖(3),1,2,3-三-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖(4),1,2,6-三-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖(5),1,2,3,6-四-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖(6),1,2,3,4,6-五-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖(7),槲皮素-3-O-α-L-鼠李糖苷(8),芦丁(9),异鼠李素-3-O-β-半乳糖苷(10),槲皮素-3-O-β-半乳糖苷(11),山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖苷(12),山柰酚-3-O-α-L-鼠李糖苷(13),槲皮素(14)。其中化合物3~14为首次从香椿果中分离得到,化合物5,10,11为首次从香椿中分离得到。化合物4~7有显著抗补体活性,半数抑制浓度(IC₅₀)分别为88.3, 76.2, 13.9, 9.6 μmol·L⁻¹。结论:香椿果活性部位为乙酸乙酯萃取部位,活性成分为其中没食子酰基葡萄糖衍生物和黄酮苷,前者抗补体活性显著强于后者,并且其抗补体活性随着与葡萄糖羟基相连接的没食子酰基数目的增加而增强。

[关键词] 香椿; 抗补体活性; 多酚; 黄酮

[中图分类号] R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)21-0052-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017210052

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170731.1049.070.html>

[网络出版时间] 2017-07-31 10:49

Anti-complement Constituents from Fruits of *Toona sinensis*

HOU Ling-li¹, LI Song-lin², YAN Yin-ping³, SUN Qian-yun³, YANG Qing-xiong^{1,2*}

(1. School of Chemistry and Material Science, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2. School of Karst Science, Guizhou Normal University/State Engineering Technology Institute for Karst Desertification Control, Guiyang 550001, China; 3. The Key Laboratory of Natural Products, Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the anti-complement constituents from the fruits of *Toona sinensis*. **Method:** The anti-complement constituents were screened by hemolysis method, then isolated and purified with different chromatographic techniques. Their structures were elucidated with the methods of ¹H-NMR, ¹³C-NMR and together with the comparison of reported data. **Result:** The methanol extracts of the fruits of *T. sinensis* showed apparent anti-complement activity, and fourteen polyphenols were isolated from the active EtOAc fraction. The structures of the compounds were identified as gallic acid (1), methyl gallate (2), 6-O-galloyl-D-glucopyranose (3), 1, 2, 3-tri-O-galloyl-β-D-glucopyranose (4), 1, 2, 6-tri-O-galloyl-β-D-glucopyranose (5), 1, 2, 3, 6-

[收稿日期] 20170608(008)

[基金项目] 国家“十三五”重点研发计划项目(2016YFC0502607-01);贵州省科技创新人才团队项目[黔科合平台人才(2016)5625号];贵州省高层次创新型人才培养项目[黔科合人才(2016)4018号]

[第一作者] 侯灵莉,在读硕士,从事天然产物化学研究, Tel:0851-86690199, E-mail:1479675781@qq.com

[通讯作者] *杨庆雄,博士,教授,从事喀斯特石漠化治理植物资源综合利用研究, Tel:0851-86690199, E-mail:yangqx@gznu.edu.cn

tetra-*O*-galloyl- β -*D*-glucopyranose (6), 1, 2, 3, 4, 6-penta-*O*-galloyl- β -*D*-glucopyranose (7), quercetin-3-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside (8), rutin (9), isorhamnetin-3-*O*- β -galactopyranoside (10), quercetin-3-*O*- β -galactopyranoside (11), kaempferol-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (12), kaempferol-3-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside (13), and quercetin (14). Compounds 3-14 were isolated from the fruits of *T. sinensis* for the first time, and compounds 5, 10 and 11 were isolated for the first time from the plant. Compounds 4-7 showed apparent anti-complement activity, with the IC_{50} of 88.3, 76.2, 13.9 and 9.6 $\mu\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. **Conclusion:** The methanol extracts of the fruits of *T. sinensis* showed apparent anti-complement activity, and the EtOAc fraction was the active fraction. Epigallocatechin glucoside derivatives and flavonoids were the active components, and the former ones showed more potent anti-complement activity than the flavonoids; in addition, the activity was increased with the increasing of numbers of galloyl moieties.

[Key words] *Toona sinensis*; anti-complement; polyphenols; flavonoids

补体系统是机体天然免疫的第一道防线,具有抗感染、免疫调节等重要作用。但补体的过度激活会引发炎症和组织损伤。这种过度激活经常被认为是缺血/再灌注、自身免疫性疾病、器官移植排斥反应、糖尿病、老年痴呆等疾病过程中引起人体组织损伤的重要病理原因,抑制补体激活已成为防治补体相关疾病和损伤的重要策略^[1]。植物中的次生代谢产物,是筛选和发现补体抑制剂的重要来源^[2]。

香椿为楝科植物,其果实民间入药,又称为香椿子,具有祛风、散寒、止痛之功效^[3]。香椿果含有多酚、萜类等多种成分^[4],特别是其中的多酚类成分,具有降血糖、抗再灌注损伤、抗炎、抗糖尿病并发症等多种药理活性^[5-10]。笔者的前期研究中发现香椿果多酚对因补体激活导致的内皮细胞及神经细胞活化和损伤具有保护作用^[11-12]。在此基础上,为进一步阐明香椿果的抗补体活性的物质基础,从香椿果中发现具有价值的天然补体抑制剂,开展了其中抗补体活性成分的研究。本文报道了在抗补体活性筛选指导下,从香椿果抗补体活性部位中分离得到的 14 个化合物。理化数据和核磁共振波谱分析,并与文献对照,鉴定其结构分别为没食子酸(1),没食子酸甲酯(2),6-*O*-没食子酰基-葡萄糖(3),1, 2, 3-三-*O*-没食子酰基- β -*D*-葡萄糖(4),1, 2, 6-三-*O*-没食子酰基- β -*D*-葡萄糖(5),1, 2, 3, 6-四-*O*-没食子酰基- β -*D*-葡萄糖(6),1, 2, 3, 4, 6-五-*O*-没食子酰基- β -*D*-葡萄糖(7),槲皮素-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷(8),芦丁(9),异鼠李素-3-*O*- β -半乳糖苷(10),槲皮素-3-*O*- β -半乳糖苷(11),山柰酚-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(12),山柰酚-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷(13),槲皮素(14),结构式见图 1。本研究结果将为香椿果的新用途开发提供依据。

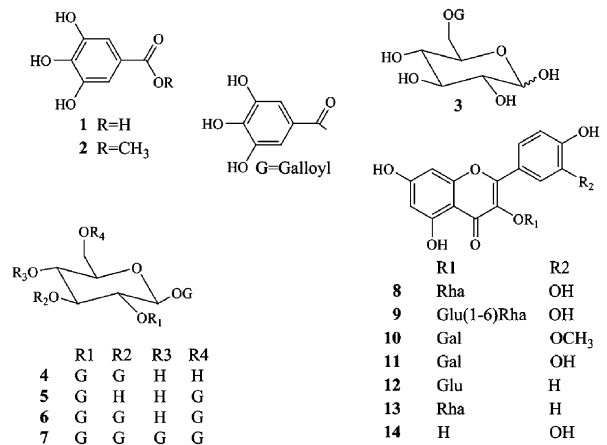


图 1 香椿果中分离得到的化合物 1~14 结构

Fig. 1 Structure of compounds (1-14) isolated from fruits of *Toona sinensis*

1 材料

柱色谱硅胶 G (200 ~ 300 目,青岛海洋化工厂), LH-20 型羟丙级葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20, 美国 Pharmacia Biotech 公司), 反相硅胶 ODS (50 μm , 日本 YMC 公司), CHP20P 型小孔树脂凝胶 (MCI CHP20P, 日本三菱公司), 乙二醇双(2-氨基乙醚)四乙酸、迷迭香酸(美国 Sigma 公司), 色谱甲醇(德国 Merck 公司), 其他所用试剂均为分析纯。

兔抗绵羊红细胞(溶血素,美国 Sigma 公司), 绵羊红细胞、兔红细胞和制备血清的 5 只普通级成年雄性豚鼠[合格证号 SCXK(黔)2012-0001, 体重 300 ~ 400 g, 饲养和取血符合动物实验伦理规范]购自贵阳医学院实验动物中心。人血清由本实验室健康志愿者献血制备而得。

AM-400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司), Spectra MAX-190 型连续波长酶标仪(美国 MD 公司), 5810R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司), LC-5C 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), 旋转蒸

发仪(日本东京理化), YMC 十八烷基键合硅胶半制备色谱柱(10 mm × 250 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司)。

香椿果药材采集于贵州省关岭, 经贵州师范大学喀斯特研究院的杨庆雄教授鉴定为楝科植物香椿 *Toona sinensis* 的干燥果实, 植物标本(编号 2009051501) 收藏在贵州师范大学喀斯特研究院植物标本室。

2 方法和结果

2.1 抗补体活性测定

2.1.1 豚鼠血清的制备 3 只健康豚鼠下腔主静脉取血, 室温放置 1 h, 4 °C 放置 2 h 后, 3 000 r · min⁻¹ 离心 20 min, 血清混合均匀后分装, 于 -80 °C 冻存备用。

2.1.2 致敏绵羊红细胞的制备 绵羊颈静脉取血后保存在等体积阿氏液中, 放于 4 °C 备用。取适量绵羊红细胞离心(8 000 × g, 15 min) 弃去上清后, 以葡萄糖明胶佛罗那缓冲液(GGVB²⁺)^[13] 洗涤, 反复 3 次。每次 2 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 用 GGVB²⁺ 配制成密度为 1 × 10⁹ 个/mL 的混悬液, 再加入等体积的溶血素(1:2 000) 于 37 °C 孵育致敏 30 min, 即得。

2.1.3 经典途径测定方法 参照孙黔云等^[13] 的方法并加以调整, 在含有补体(豚鼠血清)的体系中, 致敏羊红细胞发生溶血反应, 测定在该体系加入待测样品前后溶血反应的情况可以观测样品对溶血反应的调节作用。适量供试样品溶于 DMSO, 取 1 μL 加至 99 μL GGVB²⁺ 缓冲液中, 加入豚鼠血清(GGVB²⁺ 1:100 稀释) 100 μL, 再加入致敏绵羊红细胞(5 × 10⁸ 个/mL) 100 μL, 充分混匀后于 37 °C 水浴孵育 30 min, 其间不断振摇。加冷生理盐水 1 mL 终止反应, 2 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液于 405 nm 测吸光度 *A*。实验同时设立对照组和全溶血组, 以供试品浓度作为 *X* 轴, 以供试品组扣除对照组 *A* 计算补体抑制率作为 *Y* 轴作图, 计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

2.2 提取与分离 将 2.2 kg 干燥的香椿果粉碎, 用 95% 乙醇室温浸泡提取 3 次(每次 10 L), 每次浸泡 24 h。合并滤液, 用旋转蒸发仪减压蒸馏浓缩得 112.0 g, 即为香椿果乙醇提取物。乙醇提取物 110.0 g 分散溶于 2 L 的 95% 乙醇中, 加入石油醚反复萃取 3 次(每次 400 mL), 合并石油醚部分, 减压浓缩的石油醚萃取部分 8.8 g; 乙醇层回收乙醇后, 分散于 2 L 水中, 三氯甲烷萃取 3 次(每次 400 mL), 合并三氯甲烷部分, 回收三氯甲烷后得三氯甲烷萃

取物 4.3 g; 水部分加入乙酸乙酯萃取 3 次(每次 400 mL), 合并乙酸乙酯部分, 减压蒸馏除去溶剂, 得乙酸乙酯萃取部位 75.5 g; 水部分减压蒸馏, 除去水, 得水部位 21.2 g。

取乙酸乙酯部分 50.0 g, 加硅胶 100 g 拌样后, 上硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(10:1 ~ 1:1), 洗脱液经硅胶薄层色谱检测后合并, 得 3 个部分(Fr. 1 ~ Fr. 3)。Fr. 1 部分(5.2 g) 上 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇-水梯度洗脱(10% ~ 100%), 得到化合物 **2**(800 mg) 和 1 个混合物, 混合物经反相硅胶(ODS) 柱色谱, 65% 甲醇水洗脱, 得化合物 **14**(80 mg) 和 **1**(1.5 g)。Fr. 2 部分(2.5 g) 上 MCI CHP20P 柱色谱, 甲醇-水梯度洗脱, 分成 2 部分, 第 1 部分(300 mg) 上半制备 HPLC, 70% 甲醇水洗脱, 得化合物 **9**(8 mg) 和 **13**(22 mg), 第 2 部分(312 mg) 上半制备 HPLC, 65% 的甲醇水, 得化合物洗脱 **10**(10 mg) 和 **11**(15 mg), 第 3 部分(520 mg) 上半制备 HPLC, 得化合物 **8**(15 mg) 和 **12**(13 mg)。Fr. 3(28.5 g) 上凝胶 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 甲醇-水梯度洗脱, 分成 3 部分(Fr. 3-1, Fr. 3-2, Fr. 3-3)。Fr. 3-1(18.5 g) 中, 取 200 mg 上半制备 HPLC, 50% 甲醇(含 0.1% 甲酸) 洗脱, 得化合物 **6**(40 mg) 和 **7**(120 mg); Fr. 3-2(1.2 g) 中, 取 200 mg 上半制备 HPLC, 55% 甲醇(含 0.1% 甲酸) 洗脱, 得化合物 **4**(25 mg) 和 **5**(38 mg); Fr. 3-3(120 mg) 上半制备 HPLC, 60% 甲醇(含 0.1% 甲酸) 洗脱, 得化合物 **3**(21 mg)。

2.3 结构鉴定 化合物 **1** 白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.06 (2H, s, H-2, 6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 168.4 (C-7), 146.3 (C-3, 5), 139.2 (C-4), 122.0 (C-1), 110.4 (C-2, 6)。以上光谱数据与文献[14] 基本一致, 鉴定化合物 **1** 为没食子酸。

化合物 **2** 类白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.04 (2H, s, H-2, 6), 3.81 (3H, s, H-OCH₃)。 ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 169.0 (C-7), 146.5 (C-3, 5), 139.8 (C-4), 121.4 (C-1), 110.0 (C-2, 6), 52.5 (C-OCH₃)。与文献[7] 数据基本一致, 该化合物为没食子酸甲酯。

化合物 **3** 白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.15 (2H, s, galloyl 上 H-2', 6'), 5.12 (1/2H, d, *J* = 3.3 Hz, α 构型的 H-1), 4.55 (1/2H, d, *J* = 7.1 Hz, β 构型的 H-1); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 168.8 (C-7'), 166.6 (C-3', 5'), 139.8

(C-4'), 121.5 (C-1'), 110.5 (C-2', 6'), 98.5 (C-1, β 构型), 94.3 (C-1, α 构型), 76.4 (C-3, β 构型), 75.5 (C-5, β 构型), 74.9 (C-2, β 构型), 74.0 (C-3, α 构型), 73.6 (C-5, α 构型), 71.9 (C-2, α 构型), 71.3 (C-4, β 构型), 71.0 (C-4, α 构型), 64.9 (C-6)。该化合物的波谱数据显示为一组化合物, 从氢谱可看出为含有一对端基为 α, β 构型混合的葡萄糖没食子酰酯, 葡萄糖的 C-6 化学位移较常见葡萄糖基有一定增加, 可能发生了糖苷化所引起。以上波谱数据与文献[14]数据对比, 基本一致, 故鉴定为 6-O-没食子酰基-葡萄糖。

化合物 4 灰白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.05, 7.01, 6.91 (each 2H, s, galloyl H-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''), 6.02 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 5.50 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-3), 5.38 (1H, t, $J = 9.1$ Hz, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 168.0, 167.5, 166.8 (C-7', C-7'', C-7'''), 146.4, 146.3, 145.8 (C-3', 5'; 3'', 5''; 3''', 5'''), 140.1 \times 3 (C-4', 4'', 4'''), 121.5, 121.5, 120.6 (C-1', 1'', 1'''), 110.4 \times 3 (C-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''), 94.0 (C-1), 77.1 (C-5), 76.8 (C-3), 72.4 (C-2), 69.4 (C-4), 62.1 (C-6)。以上数据与文献[14-15]对比, 基本一致, 化合物 4 鉴定为 1,2,3-三-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖。

化合物 5 灰白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.05, 7.01, 6.91 (each 2H, s, galloyl H-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''), 5.98 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 5.29 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-2), 4.68 (1H, br d, $J = 12$ Hz, H-6), 4.42 (1H, dd, $J = 4, 12$ Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 168.0, 167.5, 166.8 (C-7', C-7'', C-7'''), 146.4, 146.3, 145.8 (C-3', 5'; 3'', 5''; 3''', 5'''), 140.1 \times 3 (C-4', 4'', 4'''), 121.5, 121.5, 120.6 (C-1', 1'', 1'''), 110.4 \times 3 (C-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''), 94.0 (C-1), 75.8 (C-3), 74.9 (C-5), 73.5 (C-2), 70.8 (C-4), 64.1 (C-6)。以上数据与文献[16]对比, 基本一致, 化合物 5 鉴定为 1,2,6-三-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖。

化合物 6 灰白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.11, 7.04, 7.02, 6.92 (each 2H, s, galloyl H-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''; 2''''', 6'''''), 6.10 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1), 5.46 (1H, dd, $J = 8.1, 9.6$ Hz, H-2), 5.52 (1H, t, $J = 9.1$ Hz, H-3), 4.62 (2H, m, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 167.5, 167.2, 166.6, 166.3 (C-1', 1'', 1''', 1'''''); 146.5,

146.4, 146.3, 146.2 (C-3', 5'; 3'', 5''; 3''', 5'''; 3''''', 5'''''), 140.0, 140.2, 140.3, 140.4 (C-4', 4'', 4''', 4'''''), 121.1, 120.9, 120.6, 120.1 (C-1', 1'', 1''', 1'''''), 110.4, 110.3, 110.2, 110.1 (C-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''; 2''''', 6'''''), 94.1 (C-1), 76.6 (C-5), 76.4 (C-3), 72.2 (C-2), 69.8 (C-4), 64.1 (C-6)。以上数据与文献[14-15]对比, 基本一致, 故化合物 6 鉴定为 1,2,3,6-四-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖。

化合物 7 白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.14, 7.08, 7.04, 7.01, 6.90 (each 2H, s, galloyl H-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''; 2''''', 6'''''); 6.23 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 5.89 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-3), 5.61 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-4), 5.58 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 167.7, 167.2, 167.1, 166.9, 166.3 (C-7', 7'', 7''', 7''''', 7'''''), 146.5, 146.4, 146.3, 146.3, 146.2 (C-3', 5'; 3'', 5''; 3''', 5'''; 3''''', 5'''''), 140.5, 140.3, 140.1, 139.9, 139.8 (C-4', 4'', 4''', 4''''', 4'''''), 120.7, 120.4, 119.9, 119.6, 119.2 (C-1', 1'', 1''', 1''''', 1'''''), 110.4, 110.2, 109.8, 109.7, 109.5 (C-2', 6'; 2'', 6''; 2''', 6'''; 2''''', 6'''''), 93.6 (C-1), 74.6 (C-5), 74.5 (C-3), 72.1 (C-2), 69.5 (C-4), 62.8 (C-6)。其波谱数据与文献[14-15]报道的一致, 鉴定化合物 7 为 1,2,3,4,6-五-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖。

化合物 8 黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.57 (1H, dd, $J = 1.8, 8.0$ Hz, H-6'), 7.52 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.54 (1H, br s, H-8), 6.32 (1H, br s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 177.9 (C-4), 164.9 (C-7), 161.5 (C-5), 157.6 (C-9), 156.3 (C-2), 148.6 (C-4'), 145.1 (C-3'), 134.5 (C-3), 115.8 (C-2'), 121.1 (C-1'), 115.2 (C-5'), 120.6 (C-6'), 104.3 (C-10), 102.5 (C-1''), 98.6 (C-6), 94.1 (C-8), 70.2 (C-2''), 70.8 (C-3''), 70.0 (C-5''), 71.4 (C-4''), 17.8 (C-6'')。其波谱数据与文献[17]报道的一致, 鉴定化合物 8 为槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷。

化合物 9 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.55 (1H, dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz, H-6'), 7.54 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.52 (1H, br s, H-8), 6.32 (1H, br s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 177.6 (C-4), 164.6 (C-7), 161.5 (C-5), 156.9 (C-9), 156.8 (C-2), 148.3 (C-4'), 145.0 (C-3'), 133.5 (C-3), 115.6 (C-2'),

121.1 (C-1'), 115.8 (C-5'), 121.2 (C-6'), 104.1 (C-10), 101.6 (C-1''), 98.6 (C-6), 94.1 (C-8), 74.2 (C-2''), 76.6 (C-3''), 70.0 (C-4''), 76.0 (C-5''), 67.2 (C-6''), 100.8 (C-1'''), 70.3 (C-2'''), 70.5 (C-3'''), 71.9 (C-4'''), 68.5 (C-5'''), 17.8 (C-6'''). 其波谱数据与文献[18]报道的一致, 鉴定化合物 9 为芦丁。

化合物 10 黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.71 (1H, d, J = 5.6 Hz, H-6'), 7.77 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-2'), 7.27 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.74 (1H, br s, H-8), 6.72 (1H, br s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 178.7 (C-4), 165.9 (C-7), 162.8 (C-5), 157.6 (C-9), 157.3 (C-2), 151.2 (C-4'), 148.1 (C-3'), 134.7 (C-3), 122.8 (C-2'), 122.1 (C-1'), 116.2 (C-5'), 114.6 (C-6'), 105.3 (C-10), 104.0 (C-1''), 99.8 (C-6), 94.6 (C-8), 75.2 (C-2''), 69.8 (C-3''), 77.7 (C-5''), 73.4 (C-4''), 61.9 (C-6''), 56.6 (OCH₃)。以上波谱数据与文献[17]报道的一致, 鉴定化合物 10 为异鼠李素-3-O-β-半乳糖苷。

化合物 11 黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.49 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 7.24 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-2'), 7.25 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.22 (1H, br s, H-8), 6.20 (1H, br s, H-6), 4.22 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 178.9 (C-4), 166.0 (C-7), 162.8 (C-5), 157.6 (C-9), 157.5 (C-2), 161.8 (C-4'), 149.6 (C-3'), 135.1 (C-3), 135.6 (C-2'), 122.0 (C-1'), 123.7 (C-5'), 116.2 (C-6'), 105.3 (C-10), 104.6 (C-1''), 99.9 (C-6), 94.7 (C-8), 75.4 (C-2''), 69.8 (C-3''), 77.7 (C-5''), 73.4 (C-4''), 61.9 (C-6'')。其波谱数据与文献[17]报道的一致, 鉴定化合物 11 为槲皮素-3-O-β-半乳糖苷。

化合物 12 黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.12 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.08 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'), 6.38 (1H, br s, H-8), 6.33 (1H, br s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 177.8 (C-4), 164.6 (C-7), 161.1 (C-5), 156.4 (C-9), 133.3 (C-2), 159.6 (C-4'), 115.1 (C-3'), 176.8 (C-3), 130.8 (C-2'), 120.1 (C-1'), 115.1 (C-5'), 130.6 (C-6'), 104.0 (C-10), 105.9 (C-1''), 98.6 (C-6), 94.0 (C-8), 72.2 (C-2''), 74.8 (C-3''), 70.1 (C-5''), 75.0 (C-4''), 65.7 (C-6'')。其波谱数据与文献[15]对比基本一致, 故鉴定化合

物 12 为山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖苷。

化合物 13 黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.11 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.08 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'), 6.38 (1H, br s, H-8), 6.33 (1H, br s, H-6), 5.24 (1H, br s, H-1''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 177.8 (C-4), 164.7 (C-7), 161.2 (C-5), 156.4 (C-9), 133.4 (C-2), 159.6 (C-4'), 115.2 (C-3'), 176.8 (C-3), 130.8 (C-2'), 120.1 (C-1'), 115.1 (C-5'), 130.6 (C-6'), 104.0 (C-10), 105.9 (C-1''), 102.5 (C-1''), 98.6 (C-6), 94.0 (C-8), 70.1 (C-2''), 70.6 (C-3''), 69.8 (C-5''), 71.4 (C-4''), 17.7 (C-6'')。 ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD), 其波谱数据与文献[15]报道对比, 基本一致, 鉴定化合物 13 为山柰酚-3-O-α-L-鼠李糖苷。

化合物 14 黄色结晶(甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.65 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.52 (1H, dd, J = 8.3, 2.0 Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 146.9 (C-2), 135.7 (C-3), 175.9 (C-4), 156.2 (C-5), 98.2 (C-6), 163.8 (C-7), 93.4 (C-8), 160.8 (C-9), 103.1 (C-10), 122.2 (C-1'), 115.1 (C-2'), 145.1 (C-3'), 147.6 (C-4'), 115.7 (C-5'), 120.1 (C-6')。数据与文献[15]对照, 鉴定该化合物为槲皮素。

2.4 香椿果醇提取物不同部位的抗补体活性 香椿果乙醇提取物经不同极性的溶剂萃取分段后, 得到石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯和水 4 个部位, 按 2.1 项下方法分别测定抗补体活性。可看出, 香椿果乙醇提取物具有强烈的抗补体活性, 经溶剂萃取后, 石油醚部分几乎没有抗补体活性, 三氯甲烷部位和水部位只表现出轻微的抗补体作用, 抗补体活性成分基本集中分布于乙酸乙酯部位, 见表 1。

表 1 香椿果提取物抗补体活性测定 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Inhibitory effect of different extracts of *Toona sinensis* fruits ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	抑制率/%
乙醇提取物	85.55 ± 3.15
石油醚部位	1.48 ± 5.31
三氯甲烷部位	15.24 ± 3.46
乙酸乙酯部位	95.63 ± 2.50
水部位	20.36 ± 9.20
迷迭香酸	88.16 ± 0.96

注: 质量浓度均为 50 mg · L⁻¹。

2.5 香椿果乙酸乙酯部位化学成分抗补体活性

对从香椿果乙酸乙酯部位中分离得到的 14 个化合物进行抗补体活性测定,并测定 IC₅₀,结果见表 2。化合物 4,5,6,7 都显示出较强的抗补体活性,而且抗补体活性随着葡萄糖上连接的没食子酰基数目的增加而显著增强,这与文献报道的从胡桃中分离得到的多酚类成分^[15]具有类似的活性特征,而黄酮类成分抗补体活性则较弱。

表 2 香椿果乙酸乙酯部位化学成分的抗补体活性测定 (n=3)

Table 2 Inhibitory effects of compounds isolated from ethyl acetate fraction of *Toona sinensis* fruits (n=3)

化合物	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹
1	647.2
2	-
3	165.5
4	88.3
5	76.2
6	13.9
7	9.6
8	350.6
9	-
10	280.6
11	-
12	215.5
13	260.5
14	-
迷迭香酸	62.5

注: - 表示没有活性。

3 讨论

本研究中,从香椿果的抗补体活性部位中分离得到了 14 个化合物,其中化合物 3~14 为首次从香椿果中分离得到,化合物 5,10,11 为首次从香椿中分离得到。香椿果的多酚成分包括了没食子酸葡萄糖酯和黄酮两大类组分,并且以没食子酸葡萄糖酯为主要成分,黄酮成分含量较少。没食子酸葡萄糖酯类组分具有显著的抗补体活性,而黄酮类组分仅表现出较弱的作用。

香椿作为一种重要的食用植物,其叶、果的开发利用一直受到人们的关注。本研究结果说明,香椿果与香椿叶一样,都含有丰富的多酚类组分,并且具有显著的抑制补体的活性。香椿果和香椿叶中的多酚类组成相似,而且都表现出类似的调节血脂、血糖作用^[5,18-20],并可以改善糖尿病胰岛素抵抗^[21],而糖

尿病作为一种代谢性疾病,也被看着是一种炎症性疾病^[22],补体激活可诱导炎症发生,是糖尿病血管并发症的重要病理机制^[23]。同时,文献报道的香椿子多酚对多种与补体激活相关病理过程均具有调节作用^[5-10],与笔者的研究结果相结合,进一步提示了,香椿果和香椿叶中的多酚化合物,在治疗或预防与补体激活损伤有关的疾病,如糖尿病及其并发症等方面,具有潜在的应用价值。研究结果对香椿植物资源的深度利用,具有参考作用。

[参考文献]

[1] Ricklin D, Lambris J D. Complement-target therapeutics [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25 (11): 1265-1275.

[2] 徐小娜, 陈亮宇, 赵心清. 天然抗补体活性物质研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27 (2): 355-359.

[3] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编. 下册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 467.

[4] 贺正阳, 林丽. 香椿子化学成分与药理作用研究进展 [J]. 甘肃中医学院学报, 2013, 30 (4): 64-66.

[5] 邢莎莎, 陈超. 香椿子总多酚对糖尿病小鼠的降血糖作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (11): 169-171.

[6] 李红月, 陈超. 基于炎症反应的香椿子总多酚抗大鼠心肌缺血再灌注损伤的机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (2): 187-190.

[7] 游艳, 陈超, 何治. 香椿子正丁醇提取物对大鼠局灶性脑缺血保护作用研究 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26 (3): 421-424.

[8] 杨艳丽, 陈超. 香椿子总多酚对佐剂型关节炎大鼠的治疗作用及机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2012, 29 (12): 117-119.

[9] 袁成, 陈超, 游艳, 等. 香椿子正丁醇提取物对脑缺血再灌注致多器官功能障碍综合征的保护作用 [J]. 中草药, 2013, 44 (3): 323-326.

[10] 王晓红, 李万忠. 香椿子不同极性部位对糖尿病周围神经病变的保护作用 [J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28 (1): 120-124.

[11] 赵琼, 孙黔云, 杨庆雄. 香椿果抗补体活性多酚对补体损伤神经细胞的保护作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27 (8): 1086-1090.

[12] 赵琼, 孙黔云, 杨庆雄. 香椿果多酚对补体致内皮细胞活化和损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27 (10): 1401-1404.

[13] SUN Q Y, BAO J. Purification, cloning and characterization of a metalloproteinase from *Naja atra* venom [J]. Toxicon, 2010, 56 (8): 1459-1469.

[14] WANG K J, YANG C R, ZHANG Y J. Phenolic

- antioxidants from Chinese toon (fresh young leaves and shoots of *Toona sinensis*) [J]. Food Chem ,2007 ,101 (1) : 365-371.
- [15] Min B S ,Lee S Y ,Kim J H. Anti-complement activity of constituents from the stem-bark of *Juglans mandshurica* [J]. Biol Pharm Bull ,2003 ,26 (7) : 1042-1044.
- [16] Nonaka G ,Nishioka I ,Nagasawa T ,et al. Tannins and related compounds. I. rhubarb (1) [J]. Chem Pharm Bull ,1981 ,29 (10) : 2862-2870.
- [17] Vvedenskaya I O , Rosen R T , Guido J E , et al. Characterization of flavonols in cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) powder [J]. J Agric Food Chem ,2004 ,52 (2) : 188-195.
- [18] Kakumu A ,Ninomiya M ,Efdi M , et al. Phytochemical analysis and antileukemic activity of polyphenolic constituents of *Toona sinensis* [J]. Bioorg Med Chem Lett ,2014 ,24 (17) : 4286-4290.
- [19] LIU H W , Tsai Y T , CHANG S J. *Toona sinensis* leaf extract inhibits lipid accumulation through up-regulation of genes involved in lipolysis and fatty acid oxidation in adipocytes [J]. J Agric Food Chem ,2014 ,62 (25) : 5887-96.
- [20] ZHANG Y , DONG H , WANG M , et al. Quercetin isolated from *Toona sinensis* leaves attenuates hyperglycemia and protects hepatocytes in high-carbohydrate/high-fat diet and alloxan induced experimental diabetic mice [J]. J Diabetes Res , doi : 10. 1155/2016/8492780.
- [21] LIU H W ,HUANG W C ,YU W J ,et al. *Toona Sinensis* ameliorates insulin resistance *via* AMPK and PPAR γ pathways [J]. Food Funct ,2015 ,6 (6) :1855-1864.
- [22] XIE W , DU L. Diabetes is an inflammatory disease : evidence from traditional Chinese medicines [J]. Diabetes Obes Metab ,2011 ,13 (4) : 289-301.
- [23] Østergaard J ,Hansen T K , Thiel S , et al. Complement activation and diabetic vascular complications [J]. Clin Chim Acta ,2005 ,361 (1/2) :1-10.

[责任编辑 顾雪竹]