

## 鬼针草全草中一个新的橙酮苷类化合物

刘畅<sup>1,2</sup>, 韩玉<sup>2,3</sup>, 刘娇<sup>2,3</sup>, 张涛<sup>2\*</sup>, 邹忠梅<sup>1,2\*</sup>

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 中国医学科学院北京协和医学院, 药用植物研究所, 北京 100193;  
3. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** 采用硅胶柱色谱、聚酰胺柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、MCI 柱色谱及半制备高效液相色谱等技术手段从鬼针草 (*Bidens pilosa* L.) 全草 95% 乙醇提取物分离纯化得到 10 个化合物。依据其理化性质、波谱数据 (UV、IR、MS、NMR) 等鉴定了化合物的结构, 分别为鬼针草橙酮苷 A (1)、Z-6-O-(4''-O-乙酰基-6''-O-p-香豆酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (2)、okanin 4'-O-β-D-(4'',6''-diacetyl)-glucopyranoside (3)、Z-6-O-(6''-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (4)、6,7,3',4'-四羟基橙酮 (5)、Z-6-O-(6-O-香豆酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (6)、Z-6-O-(4',6'-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (7)、Z-6-O-(6''-O-p-香豆酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (8)、木犀草素 (9)、7-O-β-D-glucopyranosyl-5,3'-dihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone (10)。其中, 化合物 1 为新化合物。化合物 4 和 9 能够一定程度上抑制油酸钠-棕榈酸钠诱导的人肝 HepG2 细胞脂质沉积。分子对接技术预测其发挥降脂活性的潜在作用靶点可能为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARγ)。

**关键词:** 菊科; 鬼针草; 化学成分; 橙酮; 降脂作用

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)06-1757-08

A new aurone glycoside from the whole plant of *Bidens pilosa* L.LIU Chang<sup>1,2</sup>, HAN Yu<sup>2,3</sup>, LIU Jiao<sup>2,3</sup>, ZHANG Tao<sup>2\*</sup>, ZOU Zhong-mei<sup>1,2\*</sup>

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract:** Ten compounds were isolated from the 95% ethanol extract of the whole plant of *Bidens pilosa* L. by silica gel column chromatography, polyamide column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, MCI column chromatography, and semi-preparative HPLC methods. Based on its physicochemical properties and spectral data (UV, IR, MS, NMR), the structures of the isolates were identified as bidpilaureone glycoside A (1), Z-6-O-(4''-O-acetyl-6''-O-p-coumarinyl-β-D-glucopyranosyl)-6,7,3',4'-tetrahydroxyaurone (2), okanin 4'-O-β-D-(4'',6''-diacetyl) glucopyranoside (3), Z-6-O-(6''-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-6,7,3',4'-tetrahydroxyaurone (4), 6,7,3,4'-tetrahydroxyaurone (5), Z-6-O-(6-O-coumarinyl-β-D-glucopyranosyl)-6,7,3',4'-tetrahydroxyaurone (6), Z-6-O-(4,6-acetyl-β-D-pyranosyl)-6,7,3,4'-tetrahydroxyaurone (7), Z-6-O-(6''-O-p-coumarinyl-β-D-glucopyranosyl)-6,7,3',4'-tetrahydroxyaurone (8), luteolin (9), and 7-O-β-D-glucopyranosyl-5,3'-dihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone (10). Among them, compound 1 was a new aurone glycoside from *B. pilosa* L. Compounds 4 and 9 could partially inhibit the lipid deposition induced by sodium oleate and palmitate in human liver HepG2 cells. Molecular docking technology predicts that the potential target for its hypolipidemic activity may be peroxisome proliferator-activated receptors γ (PPARγ).

收稿日期: 2023-11-24; 修回日期: 2024-03-12.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2022-I2M-1-017); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2019ZX09735002).

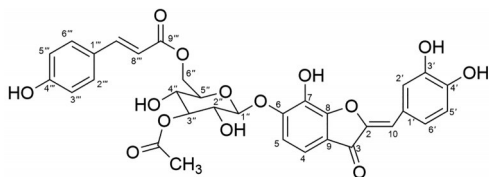
\*通讯作者 Tel: 86-10-57833281, E-mail: tzhang@implad.ac.cn;

Tel: 86-10-57833290, E-mail: zmzou@implad.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-1327

**Key words:** Asteraceae; *Bidens pilosa* L.; chemical composition; aurone; hypolipidemic activity

菊科 (Asteraceae) 鬼针草属 (*Bidens* L.) 在全球约有 230 种植物, 原产于热带美洲, 现广泛分布于亚洲、美洲的热带和亚热带地区<sup>[1]</sup>。我国有 9 种 2 变种<sup>[2]</sup>, 遍布全国各地。鬼针草 (*Bidens pilosa* L.) 为菊科鬼针草属一年生草本植物, 又名杈杈草、芽紫布等<sup>[3]</sup>, 在我国常作为民族用药, 以全草入药, 多生长于路边荒野, 极易采集。据《本草纲目》记载, 鬼针草具有清热解毒、散瘀消肿的功效<sup>[4]</sup>。拉祜族、白族、傣族等民族用来治疗黄疸型肝炎、小儿腹泻、阑尾炎、脾下出血以及毒蛇咬伤等<sup>[5]</sup>。国内外研究表明鬼针草化学成分主要包括黄酮类、聚乙炔类、苯丙素类以及生物碱类等<sup>[6-8]</sup>。现代药理研究表明, 该植物具有降低血压、调节血脂、血糖、保肝、抗肿瘤以及抗炎等多种活性<sup>[9-13]</sup>。目前其活性研究大多集中在鬼针草提取物, 对其化学成分特别是橙酮类化合物活性研究鲜有报道。为了进一步阐明鬼针草的物质基础, 寻找具有生物活性的化合物, 本论文对鬼针草 95% 乙醇提取物的化学成分进行了研究, 从其乙酸乙酯萃取部位分离得到 10 个化合物, 并鉴定为: 鬼针草橙酮苷 A (**1**)、*Z*-6-*O*-(4''-*O*-乙酰基-6''-*O*-*p*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (**2**)、okanin 4'-*O*- $\beta$ -*D*-(4'',6''-diacetyl)-glucopyranoside (**3**)、*Z*-6-*O*-(6''-*O*-乙酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (**4**)、6,7,3',4'-四羟基橙酮 (**5**)、*Z*-6-*O*-(6-*O*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (**6**)、*Z*-6-*O*-(4',6'-乙酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (**7**)、*Z*-6-*O*-(6''-*O*-*p*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮 (**8**)、木犀草素 (**9**)、7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-5,3'-dihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone (**10**)。其中化合物 **1** 为新化合物 (图 1、2), 本文主要介绍了新化合物的分离纯化、结构鉴定以及活性评价。

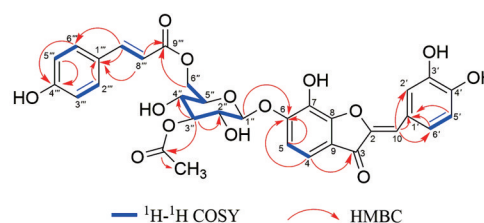


**Figure 1** Structure of **1**

## 结果与讨论

### 1 结构鉴定

化合物 **1** 橙色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显玫瑰红色 (120 °C)。UV 显示在 207 和 243 nm 处最大吸收, IR 图



**Figure 2** <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and key HMBC correlations of **1**

谱中显示有羟基 (3 271 cm<sup>-1</sup>)、羰基 (1 730 cm<sup>-1</sup>)、双键 (1 649、1 604 cm<sup>-1</sup>) 等基团特征吸收峰。HR-ESI-MS *m/z*: 637.156 8 [M+H]<sup>+</sup> (计算值: 637.155 1, C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>O<sub>14</sub>), 结合 <sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C NMR 数据推测分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>28</sub>O<sub>14</sub>。

该化合物 <sup>1</sup>H NMR 谱 (表 1) 显示苯环上有一对邻位取代的芳香族质子信号  $\delta_{\text{H}}$  7.16 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.08 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5); 同时提示结构中还存在 ABX 耦合系统,  $\delta_{\text{H}}$  7.46 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2''), 6.85 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 7.35 (1H, dd, *J* = 8.4, 1.8 Hz, H-6''); 结合 <sup>1</sup>H NMR 谱中橙酮类化合物特征的双键质子信号  $\delta_{\text{H}}$  6.69 (1H, s, H-10), 葡萄糖的端基质子  $\delta_{\text{H}}$  5.24 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 以及 <sup>13</sup>C NMR 谱中出现的羰基碳  $\delta_{\text{C}}$  182.4 (C-3) 信号, 可推测化合物 **1** 为橙酮苷, 且连接的葡萄糖为  $\beta$ -构型。酸水解及衍生化后的 LC-MS 数据分析确定葡萄糖为 *D*-葡萄糖。<sup>1</sup>H NMR 谱显示  $\delta_{\text{H}}$  2.08 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc) 以及 <sup>13</sup>C NMR 谱中  $\delta_{\text{C}}$  169.8 (C=O-OAc), 21.1 (CH<sub>3</sub>-OAc) 推测结构中存在乙酰基。

此外, 该化合物 <sup>1</sup>H NMR (表 1) 谱还显示了苯环有因对位取代而形成的 AABB 耦合系统的芳香族质子信号  $\delta_{\text{H}}$  6.80 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3''', 5'''), 7.55 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2''', 6'''), 结合反式双键<sup>[14]</sup>的质子信号  $\delta_{\text{H}}$  7.56 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-7'''), 6.43 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-8''') 和羰基碳  $\delta_{\text{C}}$  166.4 (C-9'''), 可以推测出结构中存在 1 个反式对香豆酰基。

为了确定母核与取代基之间的连接方式, 首先根据 HSQC 谱确定了与碳直接相关的质子的信号 (表 1)。根据 HMBC 谱可以分析出糖的端基质子  $\delta_{\text{H}}$  5.24 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'') 与  $\delta_{\text{C}}$  151.9 (C-6) 相关, 由此可以推断出葡萄糖与橙酮苷母核的 6 位相连。此外, 根据 HMBC 谱中葡萄糖的 6 位质子信号  $\delta_{\text{H}}$  4.25 (1H, dd, *J* = 12.6, 6.6 Hz, H-6'') 与反式对香豆酰基上的羰基碳  $\delta_{\text{C}}$  166.4 (C-9''') 相关, 因此可以推断香豆酰基的 9 位与葡萄糖的 6 位相连。

将上述数据与文献<sup>[12]</sup>报道相对比, 发现化合物 **1**

**Table 1**  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz in  $\text{DMSO}-d_6$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz in  $\text{DMSO}-d_6$ ) data of **1**

No.	<b>1</b>	
	$\delta_{\text{H}}$ (J in Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	—	145.6
3	—	182.4
4	7.16 d (8.4)	113.9
5	7.08 d (8.4)	111.8
6	—	151.9
7	—	130.4
8	—	154.2
9	—	117.2
10	6.69 s	113.0
1'	—	123.3
2'	7.46 d (1.8)	118.4
3'	—	145.5
4'	—	148.4
5'	6.85 d (8.4)	116.0
6'	7.35 dd (8.4, 1.8)	124.9
1''	5.24 d (7.8)	100.5
2''	3.62 m	71.0
3''	5.00 t (9.6)	73.7
4''	3.51 m	67.7
5''	3.93 m	76.5
6''	4.43 dd (12.0, 1.8)	62.9
	4.25 dd (12.0, 6.6)	
1'''	—	125.0
2'''	7.55 d (9.0)	130.4
3'''	6.80 d (9.0)	115.8
4'''	—	160.0
7'''	7.56 d (16.2)	145.1
8'''	6.43 d (16.2)	113.8
9'''	—	166.4
$\text{CH}_3\text{CO}-$		
- $\text{CH}_3$	2.08 s	21.1
- $\text{C}=\text{O}$	—	169.8

与 *Z*-6-*O*-(4''-*O*-乙酰基-6''-*O*-*p*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮的苷元核磁数据基本一致,但化合物 **1** 与已知化合物的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据中葡萄糖上的化学位移相差较大。通过 HMBC 谱  $\delta_{\text{H}}$  5.00 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-3'') 与  $\delta_{\text{C}}$  169.8 (C=O-OAc) 相关,推测葡萄糖 3 位被乙酰基取代。而已知化合物葡萄糖 4 位被乙酰基取代<sup>[12]</sup>。根据以上数据,化合物 **1** 鉴定为

*Z*-6-*O*-(3''-*O*-乙酰基-6''-*O*-*p*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮,命名为鬼针草橙酮苷 A (bidpilaureone glycoside A)。

## 2 化合物的活性测试以及分子对接

### 2.1 活性测试

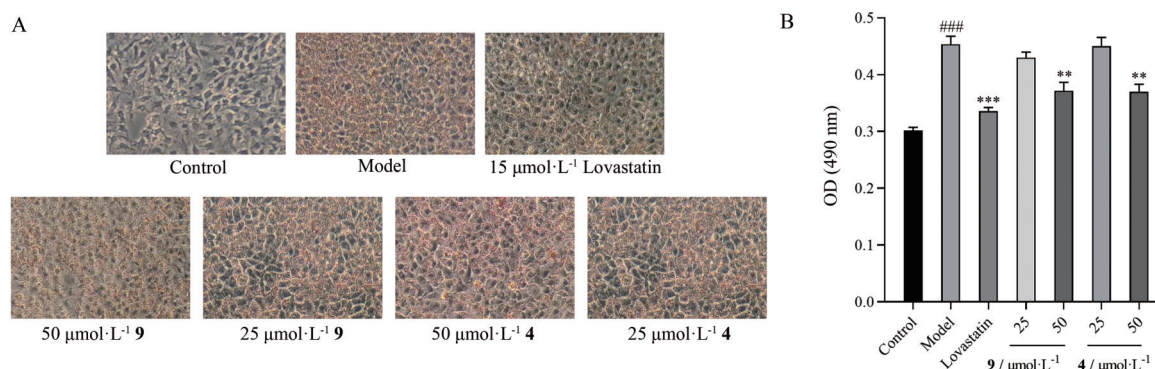
用 MTT 法检测化合物 **1**~**10** 对人肝 HepG2 细胞的细胞毒活性。结果显示,化合物 **1**~**10** 对人肝 HepG2 细胞均未表现出明显的抑制作用 ( $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。将其作用于油酸钠-棕榈酸钠联合诱导 HepG2 细胞脂质变性模型,结果如图 3 所示,化合物 **4**、**9** 浓度为  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,能使 HepG2 细胞周围的脂滴含量减少,提示具有一定的降脂作用;在浓度  $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, HepG2 细胞周围的脂滴与诱导相比没有明显变化,几乎不存在降脂作用。

### 2.2 分子对接

该研究通过分子对接技术来寻找化合物 **4** 和 **9** 的作用蛋白靶点,发现潜在靶点可能是来源于过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 的 3SZ1,于是将上述化合物与其进行分子对接。对接结果如图 4 所示,化合物 **4** 和 **9** 都与残基 PHE264 产生了  $\pi$ - $\pi$  堆积作用,与 LYS265 发生氢键作用。除此之外,化合物 **4** 还与残基 GLU343、SER342 产生了氢键作用;化合物 **9** 还与残基 HIE266 产生了氢键作用。

## 实验部分

Nicolet IS5 FT-IR 红外光谱仪, Thermo Genesys-10S UV-vis 紫外分光光度仪 (赛默飞世尔科技有限公司, 美国); Bruker AM 600 型核磁共振仪 (布鲁克科技有限公司, 瑞士); Q-TOF SYNAPT HDMS 质谱仪, Waters 2535 型 semi-PHPLC (配置 2489 型 UV 检测器, 沃特世科技有限公司, 美国); YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm  $\times$  10 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm  $\times$  20 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、YMC-Pack ODS-A 色谱柱



**Figure 3** Effects of **4** and **9** on lipid content in HepG2 cells. A, B: Effects of **4** and **9** at 50, 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  on lipid content in HepG2 cells. Magnification = 40 $\times$ .  $n = 3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . ###  $P < 0.001$  vs control group; \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs model group

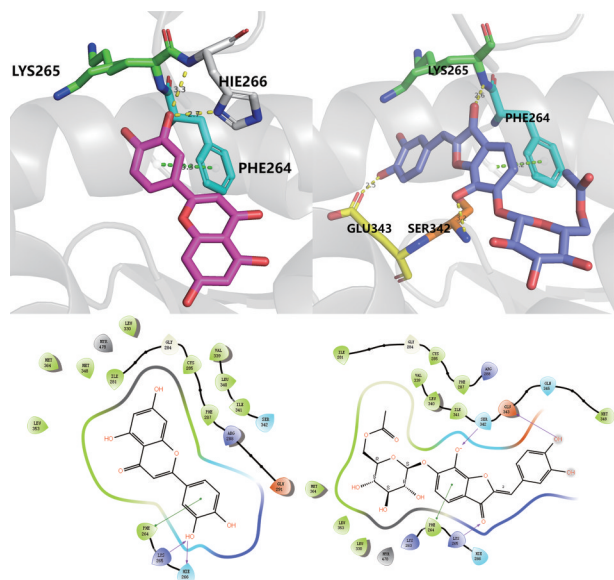


Figure 4 Molecular docking of 4 (right) and 9 (left)

(250 mm × 30 mm, 5 μm, 株式会社 YMC, 日本); Buchi Heating Both II 490 型旋转蒸发仪 (步琦有限公司, 瑞士); 柱色谱用硅胶和薄层色谱用硅胶 GF<sub>254</sub> (60~100、100~200、200~300、300~400 目, 青岛海洋化工有限公司); 真空隔膜泵 (伊尔姆真空泵制造有限公司, 德国); SHB-B 型循环水式真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); JY02S 型紫外分析仪 (北京君意设备有限公司); 色谱级甲醇和乙腈 (天津市永大化学试剂有限公司); 常规用试剂均为分析级 (北京化工厂); CKX41 显微镜 (奥林巴斯株式会社, 日本); 洁净工作台 (北京东联哈尔仪器制造有限公司); MCO-15AC 细胞孵育箱 (三洋贸易株式会社, 日本)。细胞级 DMSO、DMEM 培养基、胎牛血清 (FBS, Gibco 生物技术有限公司, 美国); 胰岛素 (insulin, 美国默克有限公司); 钠棕榈酸酯 (上海麦克林生化科技股份有限公司); 细胞增殖及毒性检测试剂 (MTT, 大连美仑生物技术有限公司); 新生牛血清 (AusgeneX 原装, 澳大利亚); 油酸钠 98% (北京伊诺凯有限公司); IBMX (≥ 99%, Reagent grade, 上海碧云天生物技术有限公司); 异硫氰酸邻甲苯酯 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

鬼针草于 2021 年 3 月购买自安国冷背药材有限公司, 经广西中医药研究院中药资源研究所黄云峰研究员鉴定为菊科鬼针草属植物鬼针草 *Bidens pilosa* L. 干燥全草。标本 (SCI-RAW000020) 现存于中国医学科学院药用植物研究所国家中药化合物库。

### 1 提取分离

鬼针草全草 48 kg, 粉碎后用 10 倍量的 95% 乙醇加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩得

95% 乙醇总浸膏 2.5 kg, 用蒸馏水分散后, 分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 得到石油醚部位 Fr. A (319 g)、乙酸乙酯部位 Fr. B (439 g)、正丁醇部位 Fr. C (452 g)、水部位 Fr. D (1 337 g)。

取乙酸乙酯部位 Fr. B (439 g) 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇系统 (50:1~0:100) 梯度洗脱, 通过 TLC 识别并合并相似流分, 得到 Fr.B<sub>1</sub>~Fr.B<sub>5</sub> 共 5 个流分。Fr.B<sub>4</sub> (83 g) 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇系统 (15:1~0:100) 洗脱, 通过 TLC 合并得到 Fr.B<sub>4.1</sub>~Fr.B<sub>4.7</sub> 共 7 个亚组分。Fr.B<sub>4.2</sub> (10 g) 经 Sephadex LH-20 色谱 (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>=1:1) 洗脱, 通过 TLC 合并得到 Fr.B<sub>4.2.1</sub>~Fr.B<sub>4.2.2</sub> 共 2 个流分。Fr.B<sub>4.2.1</sub> (2.5 g) 经聚酰胺柱色谱得到 Fr.B<sub>4.2.1.1</sub>~Fr.B<sub>4.2.1.6</sub> 共 6 个亚组分。Fr.B<sub>4.2.1.5</sub> (295 mg) 经半制备高效液相 (25% 乙腈/0.1% 甲酸水) 得到化合物 8 ( $t_R = 67.6$  min; 8.3 mg); 将 Fr.B<sub>4.2.2</sub> (2.5 g) 用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇系统 (50:1~0:100) 洗脱, 通过 TLC 合并得到 Fr.B<sub>4.2.2.1</sub>~Fr.B<sub>4.2.2.3</sub> 共 3 个亚组分。Fr.B<sub>4.2.2.1</sub> (400 mg) 经半制备高效液相 (28% 乙腈/0.1% 甲酸水) 得到化合物 3 ( $t_R = 33.7$  min; 50.9 mg)、4 ( $t_R = 53.6$  min; 16.2 mg) 和化合物 7 ( $t_R = 48.2$  min; 30.0 mg); Fr.B<sub>4.2.2.3</sub> (1.4 g) 经半制备高效液相 (25% 乙腈/0.1% 甲酸水) 得到 Fr. B<sub>4.2.2.3.1</sub>~Fr. B<sub>4.2.2.3.7</sub> 共 7 个亚组分; 将 Fr.B<sub>4.2.2.3.5</sub> (512 mg) 用半制备高效液相 (23% 乙腈/0.1% 甲酸水) 纯化得化合物 1 ( $t_R = 16.2$  min; 4.3 mg)、化合物 2 ( $t_R = 17.1$  min; 4.0 mg)、化合物 5 ( $t_R = 24.6$  min; 20.1 mg) 和化合物 9 ( $t_R = 40.1$  min; 103.2 mg); Fr.B<sub>4.2.2.3.7</sub> (179 mg) 经半制备高效液相 (28% 乙腈/0.1% 甲酸水) 得到化合物 6 ( $t_R = 61.7$  min; 8.2 mg) 和化合物 10 ( $t_R = 30.2$  min; 10.0 mg)。

### 2 结构鉴定

化合物 1 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显玫瑰红色 (120 °C), UV 显示在 207 和 243 nm 处最大吸收, IR 图谱中显示有羟基 (3 271 cm<sup>-1</sup>)、羰基 (1 730 cm<sup>-1</sup>)、双键 (1 649、1 604 cm<sup>-1</sup>) 等基团特征吸收峰。HR-ESI-MS  $m/z$ : 637.156 8 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 637.155 1, C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>O<sub>14</sub>), 推测分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>28</sub>O<sub>14</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 和 <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 数据见表 1。

化合物 2 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显玫瑰红色 (120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 637.156 8 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 637.155 1, C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>O<sub>14</sub>), 推测分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>28</sub>O<sub>14</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_H$  7.56 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-2''), 6''), 7.55 (1H, d,  $J = 16.2$  Hz, H-7''), 7.49 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 7.33 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, H-6'), 7.12

(1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 7.04 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.85 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.80 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-3'', 5''), 6.69 (1H, s, H-10), 6.43 (1H, d,  $J = 16.2$  Hz, H-8''), 5.15 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 4.77 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz, H-4''), 4.18 (2H, m, H-6''), 4.05 (1H, m, H-5''), 3.61 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz, H-3''), 3.53 (1H, m, H-2''), 2.07 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc-3''); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>c</sub> 145.4 (C-2), 182.4 (C-3), 113.7 (C-4), 111.9 (C-5), 152.0 (C-6), 130.4 (C-7), 154.5 (C-8), 117.3 (C-9), 112.9 (C-10), 123.2 (C-1'), 118.3 (C-2'), 145.2 (C-3'), 148.4 (C-4'), 116.0 (C-5'), 124.9 (C-6'), 100.9 (C-1''), 73.1 (C-2''), 72.9 (C-3''), 70.7 (C-4''), 71.4 (C-5''), 62.2 (C-6''), 124.9 (C-1'''), 130.4 (C-2'''), C-6'''), 115.8 (C-3'''), C-5'''), 160.0 (C-4'''), 145.4 (C-7'''), 113.7 (C-8'''), 166.2 (C-9'''), 169.7 (C=O-OAc), 20.9 (CH<sub>3</sub>-OAc); 以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 Z-6-O-(4''-O-乙酰基-6''-O-*p*-香豆酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮。

化合物 **3** 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显橙红色 (120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 533.127 7 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 533.128 9, C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>O<sub>13</sub>), 推测分子式为 C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>13</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.55 (2H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 7.36 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, H-6'), 7.25 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 7.08 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.86 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.77 (1H, s, H-10), 5.11 (2H, m, H-1'', 3''), 4.43 (1H, d,  $J = 12.0$  Hz, H-6''b), 4.29 (1H, dd,  $J = 12.0, 6.6$  Hz, H-6''a), 3.83 (1H, dd,  $J = 9.0, 7.2$  Hz, H-2''), 3.74 (1H, dd,  $J = 9.0, 8.4$  Hz, H-5''), 3.59 (1H, dd,  $J = 9.0, 8.4$  Hz, H-4''), 2.16 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc-6''), 2.07 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc-4''); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>c</sub> 147.5 (C-2), 185.5 (C-3), 115.6 (C-4), 113.5 (C-5), 153.4 (C-6), 134.5 (C-7), 156.3 (C-8), 119.3 (C-9), 115.8 (C-10), 125.4 (C-1'), 119.3 (C-2'), 146.8 (C-3'), 149.8 (C-4'), 116.7 (C-5'), 126.9 (C-6'), 102.6 (C-1''), 73.0 (C-2''), 78.0 (C-3''), 69.7 (C-4''), 75.4 (C-5''), 64.3 (C-6''), 172.5, 172.6 (C=O-OAc-4'', 6''), 21.1, 20.7 (CH<sub>3</sub>-OAc-4'', 6''); 以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 okanin 4'-O-β-D-(4'', 6''-diacetyl)-glucopyranoside。

化合物 **4** 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显橙红色 (120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 491.120 4 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 491.118 4, C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>O<sub>12</sub>), 推测分子式为 C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>O<sub>12</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.52 (2H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 7.32 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, H-6'), 7.20 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz,

H-4), 7.01 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.85 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.70 (1H, s, H-10), 5.01 (2H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), 4.30 (1H, dd,  $J = 12.0, 1.8$  Hz, H-6''a), 4.10 (1H, dd,  $J = 12.0, 7.2$  Hz, H-6''b), 3.69 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz, H-2''), 3.39 (1H, m, H-5''), 3.37 (1H, m, H-4''), 3.22 (1H, m, H-3''), 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc-6''); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>c</sub> 146.2 (C-2), 182.5 (C-3), 112.3 (C-4), 112.4 (C-5), 152.1 (C-6), 132.7 (C-7), 154.1 (C-8), 118.3 (C-9), 112.4 (C-10), 123.3 (C-1'), 118.3 (C-2'), 146.1 (C-3'), 148.5 (C-4'), 116.0 (C-5'), 125.0 (C-6'), 101.1 (C-1''), 73.1 (C-2''), 75.5 (C-3''), 70.0 (C-4''), 73.8 (C-5''), 63.3 (C-6''), 170.3 (C=O-OAc), 20.7 (CH<sub>3</sub>-OAc); 以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 Z-6-O-(6''-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮。

化合物 **5** 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显橙红色 (120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 287.056 9 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 287.055 0, C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>), 推测分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>H</sub> 7.44 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2'), 7.36 (1H, d,  $J = 8.4, 2.4$  Hz, H-6'), 7.11 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.85 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.72 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 6.61 (1H, s, H-10); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>c</sub> 148.0 (C-2), 182.0 (C-3), 114.4 (C-4), 112.7 (C-5), 154.6 (C-6), 130.3 (C-7), 154.9 (C-8), 115.3 (C-9), 111.7 (C-10), 124.6 (C-1'), 118.3 (C-2'), 145.5 (C-3'), 146.0 (C-4'), 115.9 (C-5'), 123.6 (C-6'); 以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为 6,7,3',4'-四羟基橙酮。

化合物 **6** 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外 254 nm 下显示为暗斑, 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显橙红色 (120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 595.146 9 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 595.148 3, C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>O<sub>13</sub>), 推测分子式为 C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>H</sub> 7.62 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-7''), 7.55 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 7.44 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-2'', 6''), 7.35 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, H-6'), 7.17 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-4), 7.09 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.86 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.80 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-3'', 5''), 6.73 (1H, s, H-10), 6.34 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-8''), 5.04 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'''), 4.57 (1H, dd,  $J = 12.0, 2.4$  Hz, H-6''a), 4.38 (1H, dd,  $J = 12.0, 7.2$  Hz, H-6''b), 3.79 (1H, m, H-5'''), 3.62 (1H, m, H-2'''), 3.56 (1H, m, H-3'''), 3.47 (1H, m, H-4'''); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>c</sub> 147.5 (C-2), 185.5 (C-3), 115.7 (C-4), 113.6 (C-5), 153.5 (C-6), 127.0 (C-7), 156.2 (C-8), 119.2 (C-9), 114.8 (C-10), 125.5 (C-1'), 119.3 (C-2'), 146.9 (C-3'), 149.7 (C-4'), 116.7 (C-5'), 126.9 (C-6'), 126.8 (C-1''), 131.2

(C-2'', C-6''), 116.9 (C-3'', C-5''), 161.4 (C-4''), 146.9 (C-7''), 114.8 (C-8''), 168.9 (C-9''), 103.0 (C-1'''), 74.8 (C-2'''), 77.4 (C-3'''), 71.7 (C-4'''), 75.9 (C-5'''), 64.5 (C-6'''); 以上数据与文献<sup>[17]</sup>研究报道基本一致, 故鉴定化合物**6**为*Z*-6-*O*-(6-*O*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮。

化合物**7** 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外254 nm下显示为暗斑, 10%浓硫酸乙醇溶液加热显橙红色(120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 533.127 7 [M+H]<sup>+</sup> (计算值533.128 9, C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>O<sub>13</sub>), 推测分子式为C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>13</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  7.52 (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz, H-2'), 7.33 (1H, d,  $J$  = 8.4, 2.4 Hz, H-6'), 7.21 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-4), 7.02 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5), 6.85 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5'), 6.71 (s, 1H, H-10), 5.14 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-1''), 4.13 (1H, dd,  $J$  = 12.6, 6.4 Hz, H-6''b), 3.59 (1H, m, H-3''), 3.54 (1H, m, H-2''), 4.72 (1H, t,  $J$  = 9.6 Hz, H-4''), 3.99 (2H, m, H-5'', 6''a), 2.06 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc-6'), 2.00 (3H, s, CH<sub>3</sub>-OAc-4'); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  145.7 (C-2), 182.5 (C-3), 114.0 (C-4), 111.7 (C-5), 152.0 (C-6), 133.0 (C-7), 154.3 (C-8), 117.3 (C-9), 113.1 (C-10), 123.3 (C-1'), 118.4 (C-2'), 145.5 (C-3'), 148.5 (C-4'), 116.1 (C-5'), 125.0 (C-6'), 100.9 (C-1''), 72.9 (C-2''), 73.2 (C-3''), 70.5 (C-4''), 71.2 (C-5''), 62.1 (C-6''), 170.1, 169.8 (C=O-OAc-4',6'), 20.9, 20.6 (CH<sub>3</sub>-OAc-4',6'); 以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**7**为*Z*-6-*O*-(4',6'-乙酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮。

化合物**8** 橙红色粉末, 溶于甲醇, 紫外254 nm下显示为暗斑, 10%浓硫酸乙醇溶液加热显橙红色(120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 595.146 9 [M+H]<sup>+</sup> (计算值595.148 3, C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>O<sub>13</sub>), 推测分子式为C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  7.56 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-2'''), 7.55 (1H, d,  $J$  = 16.2 Hz, H-7'''), 7.50 (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz, H-2'), 7.31 (1H, dd,  $J$  = 8.4, 2.4 Hz, H-6'), 7.06 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-4), 7.03 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5), 6.80 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5'), 6.80 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-3''', 5'''), 6.67 (1H, s, H-10), 6.42 (1H, d,  $J$  = 16.2 Hz, H-8'''), 5.00 (1H, d,  $J$  = 7.2 Hz, H-1''), 4.44 (1H, dd,  $J$  = 12.0, 2.4 Hz, H-6''a), 4.28 (1H, m, H-6''b), 4.21 (1H, m, H-4''), 3.74 (1H, m, H-5''), 3.42 (2H, m, H-2'', 3''); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  148.4 (C-2), 182.5 (C-3), 115.8 (C-4), 113.9 (C-5), 152.0 (C-6), 130.4 (C-7), 156.0 (C-8), 118.2 (C-9), 115.3 (C-10), 125.0 (C-1'), 118.2 (C-2'), 146.0 (C-3'), 148.5 (C-4'), 115.8 (C-5'), 126.9 (C-6'), 101.5 (C-1''), 73.2 (C-2''), 75.8 (C-3''), 70.0 (C-4''), 74.1 (C-5''), 63.3 (C-6''), 125.0 (C-1'''), 131.0

(C-2''', C-6'''), 117.2 (C-3''', C-5'''), 160.0 (C-4'''), 146.0 (C-7'''), 114.0 (C-8'''), 166.5 (C-9'''); 以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**8**为*Z*-6-*O*-(6''-*O*-*p*-香豆酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)-6,7,3',4'-四羟基橙酮。

化合物**9** 黄色粉末, 溶于甲醇, 紫外254 nm下显示为暗斑, 10%浓硫酸乙醇溶液加热显黄色(120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 287.056 9 [M+H]<sup>+</sup> (计算值287.055 0, C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>), 推测分子式为C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  12.96 (1H, s, 5-OH), 7.41 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-6'), 7.38 (1H, m, H-2'), 6.88 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5'), 6.67 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz, H-8), 6.18 (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  163.9 (C-2), 102.8 (C-3), 181.7 (C-4), 161.5 (C-5), 98.9 (C-6), 164.5 (C-7), 93.9 (C-8), 157.4 (C-9), 103.6 (C-10), 121.4 (C-1'), 113.4 (C-2'), 145.8 (C-3'), 149.9 (C-4'), 116.1 (C-5'), 119.0 (C-6'); 以上数据与文献<sup>[20]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**9**为木犀草素。

化合物**10** 浅黄色粉末, 溶于甲醇, 紫外254 nm下显示为暗斑, 10%浓硫酸乙醇溶液加热显黄色(120 °C), HR-ESI-MS  $m/z$ : 523.143 2 [M+H]<sup>+</sup> (计算值523.144 6, C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>O<sub>13</sub>), 推测分子式为C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  7.56 (2H, m, H-2', 6'), 7.12 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-5'), 6.96 (1H, s, H-8), 5.11 (1H, d,  $J$  = 7.2 Hz, H-1''), 3.87 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.79 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.76 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.71 (1H, m, H-5''), 3.47 (2H, m, H-6''), 3.31 (2H, m, H-2'', 4''), 3.18 (1H, m, H-3''); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  156.1 (C-2), 138.0 (C-3), 178.4 (C-4), 151.4 (C-5), 132.2 (C-6), 156.6 (C-7), 94.1 (C-8), 151.4 (C-9), 106.3 (C-10), 122.2 (C-1'), 115.2 (C-2'), 146.4 (C-3'), 150.4 (C-4'), 111.9 (C-5'), 120.4 (C-6'), 100.3 (C-1''), 73.2 (C-2''), 77.2 (C-3''), 69.5 (C-4''), 76.7 (C-5''), 60.6 (C-6''), 59.8 (3-OCH<sub>3</sub>), 55.7 (6-OCH<sub>3</sub>), 60.4 (4'-OCH<sub>3</sub>); 以上数据与文献<sup>[21]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物**10**为7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-5,3'-dihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone。

### 3 活性测试以及分子对接技术

#### 3.1 活性测试

**3.1.1 人肝 HepG2 细胞的细胞毒活性测试** 采用MTT法检测化合物**1**~**10**对人肝癌细胞HepG2的细胞毒活性。取培养至第三代以上且长至90%的细胞, 以每孔6×10<sup>3</sup>个细胞均匀接种于96孔板, 每孔100  $\mu$ L, 置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h。随机分为空白对照组和给药组(药物浓度为50  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>), 每个浓度设3个复孔, 待细胞贴壁后, 按照分组分别加入相应试剂。继续孵育24 h后, 吸掉上清, 每孔避光加入

MTT 10  $\mu\text{L}$ , 继续孵育 4 h。孵育完成后, 吸掉上清, 加入 DMSO 100  $\mu\text{L}$ , 用酶标仪缓慢震板 10 min, 于 490 nm 处测其吸光度并计算细胞存活率。

**3.1.2 对油酸钠-棕榈酸钠联合诱导 HepG2 细胞脂质含量的影响** 取对数生长的 HepG2 细胞以每孔  $3 \times 10^4$  个细胞均匀接种于 12 孔板中, 每孔 2 mL, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h。待细胞贴壁后, 加入油酸钠-棕榈酸钠 ( $400 \sim 200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 洛伐他汀 ( $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和不同浓度 (25、50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的化合物 **1**~**10**, 置于培养箱中继续培养 24 h。干预结束后用 PBS 缓冲液清洗细胞, 使用 4% 多聚甲醛固定液固定细胞, 之后用油红 O 染色, 显微镜观察采集图片。然后每孔加入 1 mL 异丙醇室温萃取细胞中的染料, 吸取 100  $\mu\text{L}$  至 96 孔板中, 酶标仪测定 490 nm 处吸光度。

**3.1.3 统计学分析** 采用 GraphPad Prism (version 8) 统计学软件对实验结果进行统计学分析。实验重复 3 次, 每组设置 3 个平行复孔, 结果取平均值, 所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。各组分别与对照组进行单因素方差分析, 以  $P < 0.01$  为差异有统计学意义。

### 3.2 分子对接技术

在 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org>) 数据库中以 hypolipidemic 为关键词进行搜索, 选择靶点来源为过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 的 3SZ1 (分辨率: 2.30  $\text{\AA}$ )<sup>[22]</sup>。将 3SZ1 导入 Schrodinger suite 11.8 进行优化、删除水分子、补全不完整残基以及能量最小化等一系列处理。将化合物 **1**~**10** 导入 Schrodinger suite 11.8 中进行小分子准备, 再建立对接盒子后进行分子对接。

### 4 酸水解和糖绝对构型的确定

取化合物 **1** (1 mg), 加入 2  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸 3 mL 在 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴下加热水解 2.5 h。将混合物在浓缩干燥后加水 1.0 mL, 再加乙酸乙酯 1.0 mL 萃取, 重复三次。乙酸乙酯层浓缩干燥, 得到化合物 **1** 的苷元; 水层浓缩干燥得葡萄糖。在浓缩后水层的样品中加入 *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐 (1 mg) 和吡啶 (1 mL) 在 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴下加热 1.5 h, 再加入邻甲苯异硫氰酸酯 (20  $\mu\text{L}$ ) 在 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴下加热 1.5 h。另取 1 mg *D*-葡萄糖标准品加入 *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐 (1 mg) 和吡啶 (1 mL) 在 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴下加热 1.5 h, 再加入邻甲苯异硫氰酸酯 (20  $\mu\text{L}$ ) 在 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴下加热 1.5 h。将得到的葡萄糖供试品衍生物和 *D*-葡萄糖标准品衍生物进行液质分析。液质分析条件: TripleTOF 6600 UPLC-MS (AB SCIEX); Kinetex C18 100  $\text{\AA}$  (50 mm  $\times$  2.1 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ ); 梯度洗脱: 0.1% 甲酸水 (A)-甲醇 (B), 0~20 min, 10%~100% B; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ , 流速 0.3  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 质谱条件: 正离子模式。通过对比葡萄糖供试品衍生物 ( $t_{\text{R}} = 14.1 \text{ min}$ ,  $m/z$  447.125 4

[ $\text{M}+\text{H}$ ] $^{+}$ ) 与 *D*-葡萄糖标准品衍生物 ( $t_{\text{R}} = 14.1 \text{ min}$ ,  $m/z$  447.125 4 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^{+}$ ) 的保留时间和质谱数据, 确定化合物 **1** 糖的绝对构型为 *D*-葡萄糖<sup>[23]</sup>。

**作者贡献:** 邹忠梅负责研究方案设计、写作建议、论文修改并最终定稿; 张涛负责实验和写作指导、论文修改; 刘畅负责整体实验、数据分析处理及文章撰写; 韩玉、刘娇参与鬼针草全草样品提取与萃取工作。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

### References

- [1] Jiangsu New Medical College. A Dictionary of Traditional Chinese Medicine (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing Press, 1997: 1354.
- [2] Wang Q, Zhang Y, Chen FH. Research progress on the chemical composition and pharmacological effects of total flavonoids from *Bidens bipinnata* [J] Anhui Med Pharm J (安徽医药), 2009, 13: 1011-1013.
- [3] Lin R, Chen YL, Shi T. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1985: 45.
- [4] Li SZ. Opendium of Materia Medica (本草纲目) [M]. Beijing: Medical Press, 1982: 1917.
- [5] Silva MG, Vieira I, Menges F, et al. Variation of ursolic acid content in eight *Ocimum* species from northeastern Brazil [J]. Molecules, 2008, 13: 2482-2487.
- [6] Jang JH, Park JE, Han JS. Scopoletin inhibits  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* and alleviates postprandial hyperglycemia in mice with diabetes [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 834: 152-156.
- [7] Jia MR, Li XW. Summary of Chinese Ethnic Medicine Annals (中国民族药志要) [M]. Beijing: Science Press, 2005: 95.
- [8] Shen YW, Sun ZL, Shi PY, et al. Anticancer effect of petroleum ether extract from *Bidens pilosa* L. and its constituent's analysis by GC-MS [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 217: 126-133.
- [9] Pang XJ, Lu LL, Li DW, et al. The effect of total flavonoids from *Bidens bipinnata* on insulin resistance in HepG2 cells [J]. J China Pharm (中国药房), 2022, 33: 968-974.
- [10] Wang YQ, Li SJ, Man YH, et al. Serum metabolomics coupled with HPLC-LTQ/orbitrap MS and multivariate data analysis on the ameliorative effects of *Bidens bipinnata* L. in hyperlipidemic rats [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 262: 113-116.
- [11] Guo ML, Ma XY, Gong YQ, et al. Protective effect of ethyl acetate extract from *Bidens bipinnata* on liver cell damage induced by endoplasmic reticulum stress [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2021, 46: 3893-3899.
- [12] Qiu KK, Gao XL, Ma XY, et al. Effect of *Bidens bipinnata* decoction on improving learning and memory impairment in mice induced by LPS induced central nervous system inflammation [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2020, 43: 1709-1715.
- [13] Zeng XY, Zhang T, Pan WS, et al. Research progress on chemical

- constituents of medicinal plants of *Bidens* genus [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2017, 40: 748-753.
- [14] Li CH, Zhu YJ, Yu SH, et al. A new orange ketone glycoside compound from *Bidens pilosa* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs (中草药), 2019, 50: 5389-5394.
- [15] Okuyama T, Li S, Kuang HX, et al. A new aurone glucoside and a new chalcone glucoside from *Bidens bipinnata* Linne [J]. Heterocycles, 2003, 61: 557-561.
- [16] Zhang Y, Tu PF. Chemical constituents of *Coreopsis tinctoria* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2012, 37: 3581-3584.
- [17] Sashida Y, Ogawa K, Kitada M, et al. New aurone glucosides and new phenylpropanoid glucosides from *Bidens pilosa* [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39: 709-711.
- [18] Zhao AH, Zhao QS, Peng LY, et al. A new chalcone glycoside from *Bidens bipinnata* [J]. Acta Bot Yunnanica (云南植物研究), 2004, 26: 121-126.
- [19] Li S, Kuang HX, Okuyama T, et al. Study on the effective constituents of *Bidens bipinnata* (II) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2004, 35: 972-975.
- [20] Yang XW, Huang MZ, Jin YS, et al. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties [J]. Fitoterapia, 2012, 83: 1169-1175.
- [21] Tian X, Zhou SX, Wei HL, et al. Flavonoids in *Bidens pilosa* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2011, 20: 518-522.
- [22] Puhl AC, Bernardes A, Silveira RL, et al. Mode of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  activation by luteolin [J]. Mol Pharmacol, 2012, 81: 788-799.
- [23] Kamel MS, Assaf MH, Hasanean HA, et al. Monoterpene glucosides from *Origanum syriacum* [J]. Phytochemistry, 2001, 58: 1149-1152.