

• 化学成分 •

莱菔子中 2 个新的含硫衍生物

杨佩雯¹, 张培良^{1,2}, 韩竹箴¹, 杨颖博^{1,3}, 吴 弢^{1*}

1. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203

2. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

3. 上海图锋医药科技有限公司, 上海 201203

摘要: 目的 研究莱菔子 *Raphani Semen* 的化学成分及其调脂活性。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20、ODS、半制备液相等色谱方法对莱菔子 70%乙醇提取物分离纯化, 综合应用波谱数据和理化性质鉴定化合物结构。通过 3T3-L1 前脂肪细胞的胰岛素抵抗模型评价化合物的体外调脂活性。结果 从莱菔子 70%乙醇提取物中分离纯化得到了 14 个化合物, 分别鉴定为降莱菔硫代酸乙酯 (1)、莱菔酸甲酯 (2)、芥子碱 (3)、(*E*)-2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-ylidene)acetonitrile (4)、2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-yl)acetonitrile (5)、6-methoxyindole-3-carboxylic acid *O*- β -D-glucopyranosyl ester (6)、cappariloside A (7)、3',6-二芥子酰基蔗糖 (8)、吐叶醇 (9)、3,4-二羟基苯甲醛 (10)、3,4-二羟基苯甲酸 (11)、5-羟甲基糠醛 (12)、2-羟甲基-5-呋喃丙烯酸乙酯 (13) 和 β -谷甾醇 (14)。结论 化合物 1 和 2 为新化合物。两者的生源前体均为甲硫氨酸。化合物 1 为异硫氰酸酯和乙醇的人工产物。化合物 4、6、10、11、13 为首次从莱菔子中分离得到。体外活性实验结果表明, 化合物 1 和 2 均具有一定的调脂活性。

关键词: 莱菔子; 含硫衍生物; 生物碱; 调脂活性; 降莱菔硫代酸乙酯; 莱菔酸甲酯; 3,4-二羟基苯甲酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)11-3408-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.002

Two new sulfur-containing derivatives from *Raphani Semen*YANG Pei-wen¹, ZHANG Pei-liang^{1,2}, HAN Zhu-zhen¹, YANG Ying-bo^{1,3}, WU Tao¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

3. Shanghai Tufeng Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and lipid regulating activity of Laifuzi (*Raphani Semen*). **Methods** The 70% ethanol extract of *Raphani Semen* was separated and purified by various chromatographic techniques such as silica gel, Sephadex LH-20, ODS and semi-preparative liquid chromatographic columns. The structures of these compounds were identified by spectral data and physicochemical properties. Subsequently, lipid-regulating activity of the compounds was evaluated *in vitro* by the insulin resistance model of 3T3-L1 preadipocytes. **Results** A total of 14 compounds were separated and purified from the 70% ethanol extract of *Raphani Semen*, which were identified as: ethyl norsulfuraphanate (1), methyl raphanide (2), sinapine (3), (*E*)-2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-ylidene) acetonitrile (4), 2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-yl)acetonitrile (5), 6-methoxyindole-3-carboxylic acid *O*- β -D-glucopyranosyl ester (6), cappariloside A (7), 3',6-disinapoyl sucrose (8), vomifolol (9), 3,4-dihydroxy-benzaldehyde (10), 3,4-dihydroxy-benzoic acid (11), 5-hydroxy-methylfurfural (12), 2-hydroxymethyl-5-furanacrylic acid ethyl ester (13) and β -sitosterol (14). **Conclusion** Compounds 1 and 2 are new compounds, and their biological precursors are both methionine. Furthermore, compound 1 is an artificial product of isothiocyanate reacting with ethanol. Compounds 4, 6, 10, 11 and 13 were isolated from *Raphani Semen* for the first time. Compounds 1 and 2 had potential anti-adipogenic effect *in vitro*.

收稿日期: 2023-03-25

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFC1711006)

作者简介: 杨佩雯 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础与质量标准。E-mail: 1185549745@qq.com

*通信作者: 吴 弢 (1971—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为中药药效物质基础与质量标准。E-mail: laurawu2000@163.com

Key words: *Raphani Semen*; sulfur-containing compounds; alkaloid; anti-adipogenic effect; ethyl norsulforaphanate; methyl raphanide; 3,4-dihydroxy-benzaldehyde

莱菔子 *Raphani Semen* 是十字花科植物萝卜 *Raphanus sativus* L. 的干燥成熟种子, 收录于《中国药典》2020 年版一部, 具有消食除胀和降气化痰的功效, 临床常用于治疗消化系统疾病和高血压等^[1-3]。目前从莱菔子中分离纯化、鉴定的化合物主要为硫苷及其降解产物、生物碱、苯丙素及其衍生物、黄酮、萜类、甾体等^[4]。现代药理研究表明, 莱菔子中的水溶性生物碱能够降低自发性高血压大鼠的血压^[5], 芥子碱可显著调节高脂血症大鼠的血脂水平^[6], 莱菔苷能够促进大鼠离体回肠的运动^[7], 莱菔素能够抑制人乳腺癌细胞的增殖^[8]和脂肪细胞的分化^[9], 莱菔硫烷可通过促进白色脂肪细胞的褐变而减少肥胖小鼠的脂质累积^[10]。

为了从莱菔子中寻找更多具有降脂活性的化合物, 本研究从莱菔子 70%乙醇提取物中分离、纯化、

鉴定了 14 个化合物, 分别为降莱菔硫代酸乙醇 (ethyl norsulforaphanate, **1**)、莱菔酸甲酯 (methyl raphanide, **2**)、芥子碱 (sinapine, **3**)、(E)-2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-ylidene)acetonitrile (**4**)、2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-yl)acetonitrile (**5**)、6-methoxyindole-3-carboxylic acid *O*- β -D-glucopyranosyl ester (**6**)、cappariloside A (**7**)、3',6-二芥子酰基蔗糖 (3',6-disinapoyl sucrose, **8**)、吐叶醇 (vomifolol, **9**)、3,4-二羟基苯甲醛 (3,4-dihydroxybenzaldehyde, **10**)、3,4-二羟基苯甲酸 (3,4-dihydroxybenzoic acid, **11**)、5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethylfurfural, **12**)、2-羟甲基-5-呋喃丙烯酸乙酯 (2-hydroxymethyl-5-furanacrylic acid ethyl ester, **13**) 和 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **14**), 结构见图 1。其中化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, **4**、**6**、**10**、**11** 和 **13** 为

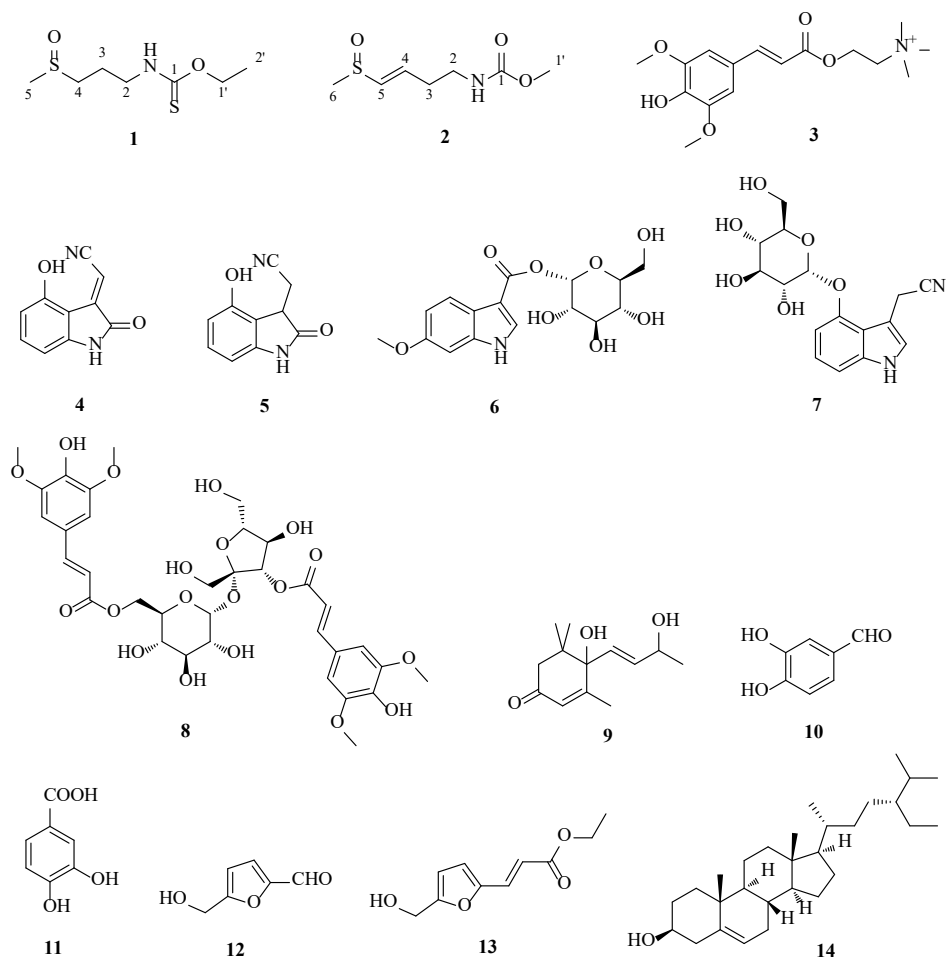


图 1 化合物 1~14 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—14

首次从莱菔子中分离得到的化合物。此外,通过 3T3-L1 前脂肪细胞的胰岛素抵抗模型对新化合物 1 和 2 进行了体外调脂活性筛选。结果表明,化合物 1 和 2 均具有潜在的调脂活性,化合物 1 较化合物 2 在 5、10 $\mu\text{mol/L}$ 下显示出更好的调脂活性。本研究为充分开发和利用莱菔子提供了一定的理论依据。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE III 400 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司); 6545 四极杆飞行时间液质联用系统(美国 Agilent 公司); LC-3000 型高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司); Capcell Pak C₁₈ MG II 制备液相色谱柱(250 mm $\times$ 20 mm, 5 μm , 日本资生堂公司); Sepacore 型中低压制备色谱仪(瑞士 BUCHI 公司); BSA124S-CW 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); Spectrum Two 型红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); MILLIPORE 型 Milli-Q 纯水仪(美国 Bedford 公司); BB150 型 CO₂ 恒温箱(赛默飞世尔科技有限公司); SYNERGY H4 型多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); IX2 型全内反射荧光显微镜(日本 OLYMPUS 公司); CKX41 型生物显微镜(日本 OLYMPUS 公司); GENESPEED416 型低速离心机(基因有限公司); 100~200、200~300、300~400 目硅胶(青岛海洋化工厂分厂); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板(烟台江友硅胶开发有限公司); 制备纯乙腈(上海泰坦科技股份有限公司); 二氯甲烷、甲醇、乙醇、醋酸乙酯、EDTA、MgSO₄、NaHCO₃(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); DMSO(翌圣生物科技有限公司); 胎牛血清、双抗、胰蛋白酶(美国 Gibco 公司); PBS 缓冲液、DMEM 高糖培养基、CCK-8 试剂盒(大连美仑生物技术有限公司); 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(STBF2497V, 质量分数 $\geq$ 99%, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 地塞米松(S12HS194411, 质量分数 $\geq$ 99%)、牛胰岛素(J16HS187861, 27 U/mg)、罗格列酮(W28D11H135759, 质量分数 $\geq$ 98%)、尼罗红染料(M18HS175211, BR, 质量分数 $\geq$ 98%)、洛伐他汀(批号 A07HS190930, 质量分数 $\geq$ 98%)均购自上海源叶生物科技有限公司。

3T3-L1 小鼠脂肪前体细胞购自中国科学院上海细胞库。

莱菔子药材(50 kg) 2020 年 11 月购买于安徽亳州市, 由上海中药标准化研究中心吴立宏研究员

鉴定为十字花科植物萝卜 *R. sativus* L. 的干燥成熟种子, 标本凭证(lfz.202011)保存于上海中医药大学中药研究所标本室。

2 提取与分离

称取莱菔子药材 50 kg, 粉碎, 用 70%乙醇水溶液冷浸提取, 提取料液比 1:4, 共提取 5 次。50 $^{\circ}\text{C}$ 减压回收试剂, 得到总提取物浸膏质量约 7438 g。取 7398 g 总浸膏加 8 L 水混悬, 用 8 L 醋酸乙酯分别萃取 3 次, 收集水部位和醋酸乙酯部位, 低温减压浓缩得到水部位浸膏(7038 g)和醋酸乙酯部位浸膏(360 g)。取 320 g 醋酸乙酯部位浸膏经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯(20:1、10:1、5:1、1:1、0:1)以及二氯甲烷-甲醇(100:1、80:1、60:1、40:1、20:1、10:1、5:1、0:1)梯度洗脱, 收集组分 Fr. A~I。Fr. B 放置过夜后, 析出晶体, 得到化合物 14(20 mg)。Fr. E 经闪柱色谱, 用二氯甲烷-甲醇(100:0、80:1、60:1、50:1 和 0:100)梯度洗脱, 得到组分 Fr. E1~5。Fr. E1 经 ODS 反相色谱柱色谱, 用甲醇-水(2:8、3:8、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1、10:0)梯度洗脱, 得到化合物 12(2 mg)。Fr. F 经 ODS 反相色谱柱色谱, 用甲醇-水(1:9、2:8、3:8、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1、10:0)梯度洗脱, 得到组分 Fr. F1~4。Fr. F4 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 用石油醚-二氯甲烷-甲醇(5:5:1)等度洗脱, 得到组分 Fr. F4-1~F4-4。Fr. F4-3 用半制备高效液相纯化得到化合物 1(4 mg, t_R =22 min, 乙腈-水 20:80, 8 mL/min)和 9(8 mg, t_R =30 min, 乙腈-水 20:80, 8 mL/min)。组分 Fr. F3 经硅胶柱色谱, 用二氯甲烷-甲醇(100:0、100:1、80:1、60:1、40:1、20:1、10:1、5:1、0:1)梯度洗脱, 得到组分 Fr. F3-1~F3-2。组分 Fr. F3-1 用半制备高效液相纯化得到化合物 5(2 mg, t_R =21 min, 乙腈-水 15:85, 8 mL/min)和化合物 10(5 mg, t_R =22 min, 乙腈-水 15:85, 8 mL/min)。组分 Fr. F2 经凝胶柱色谱, 甲醇为洗脱剂, 得到组分 Fr. F2-1~F2-3。组分 Fr. F2-3 用半制备型高效液相纯化得到化合物 4(2 mg, t_R =35 min, 乙腈-水 20:80, 8 mL/min)。Fr. G 经 ODS 反相色谱柱色谱, 用甲醇-水(2:8、3:8、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1、10:0)梯度洗脱, 得到组分 Fr. G1~G10。组分 Fr. G1 经硅胶柱色谱, 用二氯甲烷-甲醇(100:0、80:1、60:1、40:1、30:1)梯度洗脱, 得到

Fr. G1-1~G1-3。Fr. G1-2 用半制备型高效液相纯化得到化合物 **2** (14 mg, t_R =17 min, 乙腈-水 20 : 80, 8 mL/min) 和 **11** (29 mg, t_R =16 min, 乙腈-水 13 : 87, 8 mL/min)。组分 Fr. G4 经 70% 甲醇凝胶柱分离后, 用半制备型高效液相纯化得到化合物 **13** (2 mg, t_R =36 min, 乙腈-水 27 : 73, 8 mL/min)。Fr. H 经 ODS 反相色谱柱分离, 用甲醇-水 (2 : 8、3 : 8、4 : 6、5 : 5、6 : 4、7 : 3、8 : 2、9 : 1、10 : 0) 梯度洗脱, 得到组分 Fr. H1~4。组分 Fr. H1 经硅胶柱色谱分离, 采用醋酸乙酯-甲醇 (100 : 0、80 : 1、60 : 1、40 : 1、15 : 1) 梯度洗脱, 得到 Fr. H1-1~H1-3。组分 Fr. H1-1 经凝胶柱分离, 得到 Fr. H1-1-1~H1-1-4。Fr. H1-1-4 用半制备型高效液相纯化, 得到化合物 **7** (3 mg, t_R =21 min, 乙腈-水 17 : 83, 8 mL/min)。组分 Fr. H2 经硅胶柱分离, 采用醋酸乙酯-甲醇 (100 : 0、80 : 1、60 : 1、40 : 1、15 : 1) 体系洗脱, 得到 Fr. H2-1~H2-2。Fr. H2-2 经制备型高效液相纯化得到化合物 **6** (4 mg, t_R =32 min, 乙腈-水 15 : 85, 8 mL/min)。Fr. H4 经薄层制备, 得到化合物 **8** (5 mg)。取 50 g 水部位浸膏, 经过反复硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、制备液相色谱纯化得到化合物 **3** (19 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 232.044 4 $[M+Na]^+$ (计算值为 232.043 6, $C_7H_{15}NNaO_2S_2$), 得到分子式为 $C_7H_{15}NO_2S_2$, 不饱和度为 2。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 244 (0.2); IR 光谱显示有 S=O (1007 cm^{-1})、C=S (1193 cm^{-1}) 等官能团的特征吸收峰。 1H -NMR 谱 (表 1) 中, 在 δ_H 2.64 (3H, s, H-5) 处为 1 个甲基亚磺酰基氢信号, 在 δ_H 3.64 (2H, td, J =6.8, 1.6 Hz, H-2)、2.84 (2H, m, H-4)、2.04 (2H, m, H-3) 处是 3 个亚甲基氢信号; 由 ^{13}C -NMR 谱和 DEPT 谱可知, 在 δ_C 192.4 (C-1) 处有 1 个氨基硫代甲酸酯的季碳信号, 在 δ_C 52.3 (C-4)、44.5 (C-2)、23.1 (C-3) 处有 3 个亚甲基碳信号, 在 δ_C 38.2 (C-5) 处有 1 个甲基亚磺酰基碳信号。以上核磁共振数据与文献报道的 Iberin^[11] 部分相似, 两者可能都有 1 个 3-(甲基亚磺酰基)丙基, 但化合物 **1** 的相对分子质量较 Iberin 多 46, 推测化合物 **1** 可能比 Iberin 多 1 个 $-CH_2OCH_3$ 或 $-OCH_2CH_3$ 片段。根据 1H -NMR 谱中 δ_H 4.44 (2H, q, J =7.1 Hz, H-1') 和 1.29 (3H, t, J =7.1 Hz, H-2') 处的氢信号和 ^{13}C -NMR 谱中 δ_C 66.9 (C-1') 和 δ_C 14.7 (C-2') 处的碳信号, 可判断化合物 **1** 较 Iberin

多 1 个 $-OCH_2CH_3$ 片段。为了进一步解析化合物 **1** 的结构, 分析 1H - 1H COSY 谱 (图 2) 可知, δ_H 4.44 (2H, q, J =7.1 Hz, H-1')/1.29 (3H, t, J =7.1 Hz, H-2') 相关, 以及 δ_H 3.64 (2H, td, J =6.8, 1.6 Hz, H-2)/2.04 (2H, m, H-3)/2.84 (2H, m, H-4) 相关, 分别构成两个自旋偶合片段。结合 HMBC 谱中 H-4 (δ_H 2.84) 与 C-5 (δ_C 38.2) 的远程相关, 说明化合物 **1** 存在 1 个 3-(甲基亚磺酰基)丙基。经查阅 SciFinder 数据库, 确定化合物 **1** 为新化合物, 并命名为降莱菔硫代酸乙酯。

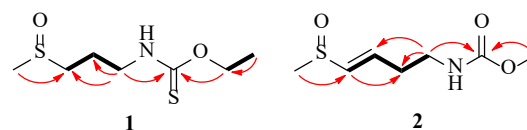


图 2 化合物 **1** 和 **2** 的关键 1H - 1H COSY (—) 与 HMBC (↷) 相关

Fig. 2 Key 1H - 1H COSY (—) and HMBC (↷) correlations of compounds **1** and **2**

化合物 **2**: 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 214.051 7 $[M+Na]^+$ (计算值为 214.050 8, $C_7H_{13}NNaO_3S$), 得到分子式为 $C_7H_{13}NO_3S$, 不饱和度为 3。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 207 (0.2); IR 光谱显示有 S=O (1015 cm^{-1})、C=O (1699 cm^{-1}) 等官能团的特征吸收峰。 1H -NMR 谱 (表 1) 中, 在 δ_H 6.45 (1H, m, H-4) 和 6.54 (1H, d, J =15.2 Hz, H-5) 处有 1 组反式双键氢信号, 在 δ_H 3.25 (2H, t, J =6.7 Hz, H-2) 和 2.46 (2H, m, H-3) 处为 2 组亚甲基氢信号, 在 δ_H 3.62 (3H, s, $-OCH_3$) 处有 1 个氧甲基氢信号, 在 δ_H 2.60 (3H, s, H-6) 处为甲基亚磺酰基团中的氢信号。由 ^{13}C -NMR 谱和 DEPT 谱可知, 在 δ_C 159.5 (C-1) 处有 1 个酰胺的羰基碳信号, 在 δ_C 139.0 (C-4)、136.3 (C-5) 处为 1 组双键的烯碳信号, 在 δ_C 33.4 (C-3)、40.4 (C-2) 处有 2 个亚甲基碳信号, 在 δ_C 52.5 (C-1') 处有 1 个氧甲基碳信号, 在 δ_C 40.4 (C-6) 处有 1 个甲基亚磺酰基碳信号。以上 NMR 数据与 methyl-(*E*)-5-(methylsulfinyl) pent-4-enoate^[12] 的非常相似, 推测两者都有 1 个 4-(甲基亚磺酰基)-3-烯丁基团, 但化合物 **2** 的相对分子质量比上述已知化合物多 15, 推测化合物 **2** 中可能有 1 个 $-NH$ -片段。为了进一步解析化合物 **1** 的结构, 分析 1H - 1H COSY 谱 (图 2) 可知, δ_H 3.25 (H-2)/ δ_H 2.46 (H-3)/ δ_H 6.45 (H-4)/ δ_H 6.54 (H-5) 相关, 构成 1 个自旋偶合系统。此外, HMBC 谱中, H-6 (δ_H 2.60) 与 C-5 (δ_C 136.3) 相关, 判断化

表 1 化合物 1 和 2 的 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) 数据Table 1 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) data of 1 and 2

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		192.4		159.5
2	3.64 (td, $J = 6.8, 1.6$ Hz)	44.5	3.25 (t, $J = 6.7$ Hz)	40.4
3	2.04 (m)	23.1	2.46 (m)	33.4
4	2.84 (m)	52.3	6.45 (m)	139.1
5	2.65 (s)	38.2	6.54 (d, $J = 15.2$ Hz)	136.3
6			2.65 (s)	40.4
1'	4.44 (q, $J = 7.1$ Hz)	66.9	3.62 (s)	52.5
2'	1.29 (t, $J = 7.1$ Hz)	14.7		

合物 2 有 1 个 4-(甲基亚磺酰基)-3-烯丁基。比较两者碳谱中对应位置的化学位移,发现化合物 2 的 C-2 向低场位移了 7.9 个化学位移,且 HMBC 谱中 C-1 (δ_{C} 159.5) 与 H-2 (δ_{H} 3.25) 具有远程相关,说明 C-1 通过 N 原子与 4-(甲基亚磺酰基)-3-烯丁基相连。经查阅 SciFinder 数据库,确定化合物 2 为新化合物,并命名为莱菔酸甲酯。

化合物 1 和 2 均为甲硫氨酸的衍生物,但两者的生成途径不同。莱菔子中的脂肪族硫苷 Glucoiberin 在黑芥子酶的作用下,先被降解为中间产物 thiohydroximate-*O*-sulfonate,随后通过罗森重排生成异硫氰酸酯 Iberin。因为异硫氰酸酯中有一个亲电性很强的碳原子,所以异硫氰酸酯很可能与亲核试剂(乙醇)发生反应从而生成化合物 1^[13-14]。而化合物 2 则可能是直接经过甲硫氨酸的侧链延

长,生成醛肟,然后通过贝克曼重排、氧化以及 GRS1 酶催化脱氢而生成的^[14-15](图 3)。根据生成途径推测,化合物 1 为异硫氰酸酯和乙醇的人工产物,而化合物 2 的生成途径不涉及甲醇、乙醇等试剂,所以化合物 2 不是人工产物。

化合物 3: 黄色油状物; 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{NO}_5$; ESI-MS m/z 310 $[\text{M}]^+$; 碘化铋钾试液显橘红色, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.68 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 6.96 (2H, s, H-2, 6), 6.48 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 4.67 (2H, m, H-10), 3.89 (6H, s, $2 \times -\text{OCH}_3$), 3.83 (2H, s, H-11), 3.30 (9H, s, $3 \times -\text{NCH}_3$), 以上波谱数据与文献数据基本一致^[16],并且与芥子碱对照品薄层行为一致,鉴定化合物 3 为芥子碱。

化合物 4: 淡黄色粉末; 分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3$; ESI-MS m/z 209 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,

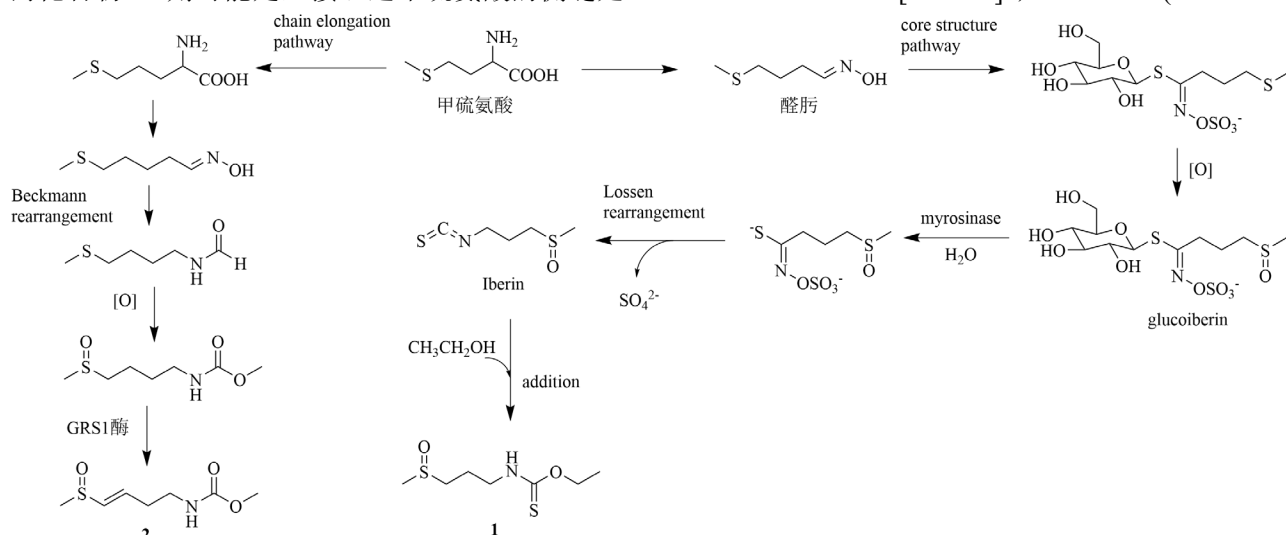


图 3 化合物 1 和 2 可能的生成途径

Fig. 3 Possible produced pathways of compounds 1 and 2

CD₃OD) δ : 7.16 (1H, m, H-6), 6.52 (1H, s, H-2), 6.47 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.34 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 167.3 (C-9), 158.6 (C-4), 145.2 (C-7a), 144.9 (C-3), 135.7 (C-6), 117.1 (C-1), 109.2 (C-5), 102.6 (C-7), 97.1 (C-2)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[17], 鉴定化合物 4 为 (*E*)-2-(4-hydroxy-2-oxoindolin-3-ylidene) acetonitrile。

化合物 5: 淡黄色粉末; 分子式 C₁₀H₈N₂O₂; ESI-MS m/z 187 [M-H]⁻; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.09 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-6), 6.51 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-7), 6.45 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5), 3.30 (1H, m, H-3), 3.18 (2H, m, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 179.4 (C-9), 155.7 (C-4), 145.2 (C-7a), 131.3 (C-6), 118.1 (C-1), 111.1 (C-5), 103.0 (C-7), 41.9 (C-3), 17.4 (C-2)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[17], 鉴定化合物 5 为 2,3-dihydro-4-hydroxy-2-oxo-1*H*-indole-3-acetonitrile。

化合物 6: 无色油状物; 分子式 C₁₆H₁₉NO₈; ESI-MS m/z 352 [M-H]⁻; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 3.56~3.40 (4H, m, H-2'~5'), 3.71 (1H, dd, J = 12.1, 4.7 Hz, H-6'b), 3.83 (3H, s, -OCH₃), 3.87 (1H, dd, J = 12.2, 2.0 Hz, H-6'a), 5.72 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 6.86 (1H, dd, J = 8.8, 2.3 Hz, H-5), 6.97 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-7), 7.94 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4), 7.95 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 165.7 (C-8), 158.5 (C-6), 139.0 (C-7a), 133.2 (C-2), 122.6 (C-4), 121.5 (C-3a), 112.8 (C-5), 107.6 (C-3), 96.0 (C-7), 95.3 (C-1'), 78.8 (C-5'), 78.3 (C-3'), 74.2 (C-2'), 71.2 (C-4'), 62.4 (C-6'), 55.9 (-OCH₃)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[18], 鉴定化合物 6 为 6-methoxyindole-3-carboxylic acid *O*- β -*D*-glucopyranosyl ester。

化合物 7: 淡黄色油状物; 分子式 C₁₆H₁₈N₂O₆; ESI-MS m/z 333 [M-H]⁻; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 3.53~3.42 (3H, m, H-2'~4'), 3.60 (1H, dd, J = 8.7, 7.7 Hz, H-5'), 3.72 (1H, dd, J = 12.0, 4.8 Hz, H-6'b), 3.90 (1H, dd, J = 12.1, 1.9 Hz, H-6'a), 4.19 (2H, d, J = 3.0 Hz, H-8), 5.09 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 6.80~6.75 (1H, m, H-7), 7.05 (2H, m, H-6, 8), 7.13 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 153.1 (C-4), 140.0 (C-7a), 124.0 (C-2), 123.6 (C-6), 121.3 (C-3a), 118.4 (C-9), 107.4 (C-7), 105.3 (C-5), 104.8 (C-3), 102.5 (C-1'), 78.4 (C-5'), 78.2 (C-3'),

75.2 (C-2'), 71.4 (C-4'), 62.5 (C-6'), 16.2 (C-8)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[19], 鉴定化合物 7 为 cappariloside A。

化合物 8: 淡黄色粉末; 分子式 C₃₄H₄₂O₁₉; ESI-MS m/z 753 [M-H]⁻; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.61 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-3''), 7.55 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-3'''), 7.02 (2H, s, H-5'', 9''), 7.01 (2H, s, H-5''', 9'''), 6.54 (1H, m, H-2''), 6.50 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'''), 5.60 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-1), 5.37~5.44 (2H, m, H-3', 4'), 5.30 (1H, d, J = 3.6 Hz, 4-OH), 5.25 (1H, d, J = 5.8 Hz, 2-OH), 4.98 (1H, d, J = 5.0 Hz, 3-OH), 4.90 (1H, t, J = 6.3 Hz, 1'-OH), 4.69 (1H, t, J = 5.7 Hz, 6'-OH), 4.46 (1H, d, J = 10.8 Hz, 4'-OH), 4.01~4.31 (4H, m, H-6, 1'a, 5'), 3.80 (6H, s, 6'', 8''-OCH₃), 3.78 (6H, s, 6''', 8'''-OCH₃), 3.57~3.74 (2H, m, H-6'a, 1'b), 3.48 (1H, dt, J = 9.1, 4.5 Hz, H-6'b), 3.26~3.42 (3H, m, H-2~4); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 166.7 (C-1''), 165.5 (C-1'''), 148.0 (C-6'', 8''), 148.0 (C-6''', 8'''), 145.8 (C-3''), 145.4 (C-3'''), 138.3 (C-7''), 138.3 (C-7'''), 124.4 (C-4''), 124.3 (C-4'''), 114.7 (C-2'', 2'''), 106.1 (C-5'', 9''), 106.1 (C-5''', 9'''), 103.1 (C-1), 90.9 (C-2'), 82.9 (C-5'), 77.1 (C-5), 73.1 (C-3'), 72.5 (C-3), 71.4 (C-4'), 70.6 (C-2), 70.1 (C-4), 64.3 (C-1'), 63.6 (C-6), 62.2 (C-6'), 56.1 (6'', 8''-OCH₃), 56.0 (6''', 8'''-OCH₃)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[19], 鉴定化合物 8 为 3',6'-二芥子酰基蔗糖。

化合物 9: 无色油状物; 分子式 C₁₃H₂₀O₃; ESI-MS m/z 247 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 5.88 (1H, t, J = 1.4 Hz, H-2), 5.80 (2H, m, H-7, 8), 4.32 (1H, qd, J = 6.3, 3.9 Hz, H-9), 2.62~2.11 (2H, m, H-6), 1.92 (3H, dd, J = 3.7, 1.4 Hz, H-11), 1.24 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-10), 1.07~0.99 (6H, m, H-12, 13); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 201.3 (C-1), 167.5 (C-3), 136.9 (C-7), 130.1 (C-8), 127.1 (C-2), 79.9 (C-4), 68.7 (C-9), 50.7 (C-6), 42.4 (C-5), 24.5 (C-12), 23.8 (C-13), 23.5 (C-10), 19.6 (C-11)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[20], 鉴定化合物 9 为吐叶醇。

化合物 10: 褐色粉末; 分子式 C₇H₆O₃; ESI-MS m/z 137 [M-H]⁻; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.69 (1H, s, H-1), 7.31 (1H, m, H-3, 6), 6.91 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ :

193.1 (C-1), 153.8 (C-5), 147.2 (C-4), 130.8 (C-2), 126.4 (C-7), 116.2 (C-6), 115.3 (C-3)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[21], 鉴定化合物 **10** 为 3,4-二羟基苯甲醛。

化合物 **11**: 褐色粉末; 分子式 $C_7H_6O_4$; ESI-MS m/z 153 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.45 (2H, m, H-3, 7), 6.82 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 170.3 (C-1), 151.5 (C-5), 146.0 (C-4), 123.9 (C-7), 123.1 (C-2), 117.7 (C-3), 115.7 (C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[22], 鉴定化合物 **11** 为 3,4-二羟基苯甲酸。

化合物 **12**: 无色油状物; 分子式 $C_6H_6O_3$; ESI-MS m/z 149 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 9.53 (1H, s, H-1), 7.39 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 6.59 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 179.5 (C-1), 163.2 (C-5), 153.8 (C-2), 125.0 (C-3), 110.9 (C-4), 57.6 (C-6)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[16], 鉴定化合物 **12** 为 5-羟甲基糠醛。

化合物 **13**: 无色油状物; 分子式 $C_{10}H_{12}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.41 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-3), 6.70 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-5), 6.42 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-6), 6.26 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-2), 4.57 (2H, s, H-8), 4.21 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-9), 1.30 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-10); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 168.7 (C-1), 159.1 (C-7), 151.8 (C-4), 132.5 (C-3), 117.4 (C-5), 115.9 (C-2), 111.0 (C-6), 61.6 (C-9), 57.5 (C-8), 14.6 (C-10)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[23], 鉴定化合物 **13** 为 2-羟甲基-5-呋喃丙烯酸乙酯。

化合物 **14**: 白色粉末; 分子式 $C_{29}H_{50}O$; ESI-MS m/z 415 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.36 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-6), 3.53 (1H, ddd, $J = 15.4$, 10.7, 4.4 Hz, H-3), 2.37~2.17 (2H, m, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 141.0 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 57.0 (C-14), 56.3 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-21), 42.5 (C-13), 42.5 (C-4), 40.0 (C-12), 37.5 (C-10), 36.7 (C-1), 36.4 (C-18), 34.15 (C-2), 32.1 (C-7), 31.9 (C-8), 29.4 (C-2), 28.5 (C-22), 26.3 (C-15), 24.5 (C-27), 23.3 (C-11), 21.3 (C-29), 20.0 (C-23), 19.6 (C-26), 19.2 (C-24), 12.2 (C-28), 12.1 (C-25)。以上波谱数据与文献数据基本一致^[16], 鉴定化合物 **14** 为 β -谷甾醇。

4 体外调脂活性筛选

4.1 化合物对 3T3-L1 前脂肪细胞存活率的影响

采用 CCK-8 法^[24], 测试化合物 **1** 和 **2** 对 3T3-L1 前脂肪细胞存活率的影响。3T3-L1 前脂肪细胞使用 DMEM 高糖培养基 (含 10% 的胎牛血清、1% 的双抗) 于 37 °C 和 5% CO_2 的条件下培养。待细胞长至密度 70%~80%, 用胰蛋白酶将 3T3-L1 前脂肪细胞消化后, 用 DMEM 高糖培养液将其制成 4×10^4 个/mL 的细胞悬液, 接种于 96 孔板, 每孔 100 μ L, 在 37 °C、5% CO_2 的条件下培养 12 h; 设对照组、给药组。吸弃原培养基, 对照组加入含 0.1% DMSO 的 DMEM 高糖培养基 100 μ L, 给药组分别给予含 10 μ mol/L 化合物的 DMEM 高糖培养基 100 μ L, 在原相同环境条件下继续培养 48 h; 吸弃原培养基, 每孔加入 100 μ L 含有 10% CCK-8 试剂的培养基溶液后, 放入培养箱 0.5 h 后取出, 用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (A), 并计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

结果表明, 化合物 **1** 和 **2** 在 10 μ mol/L 浓度下对 3T3-L 前脂肪细胞 48h 内存活率均大于 90%, 因此选取 5、10 μ mol/L 的浓度用于后续活性研究, 结果见表 2。

表 2 化合物 **1** 和 **2** 对 3T3-L1 前脂肪细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of compounds **1** and **2** on survival rate of 3T3-L1 preadipocytes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	给药浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	细胞存活率/%
对照		100.00 $\pm$ 1.11
1	10	95.81 $\pm$ 0.38**
2	10	97.33 $\pm$ 1.21**

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

4.2 3T3-L1 前脂肪细胞胰岛素抵抗模型的建立

根据文献报道的方法^[25], 通过 3T3-L1 前脂肪细胞胰岛素抵抗模型, 测试化合物对该细胞胰岛素抵抗的影响, 从而评价化合物的调脂活性。3T3-L1 前脂肪细胞 2×10^4 个/孔接种于 24 孔板, 分为对照组、模型组、阳性对照组、给药组。待细胞在完全培养基中生长至融合度 100% 后, 更换新鲜的 DMEM 高糖培养基, 继续培养 48 h; 对照组更换 2 mL 新鲜的 DMEM 高糖培养基, 模型组加入 2 mL 诱导分化培养基 I (DMEM 高糖培养基中含牛胰岛素 10 μ g/mL、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 0.5 mmol/L、

地塞米松 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 、罗格列酮 1 $\mu\text{mol/L}$), 阳性药组加入 2 mL 含 5 mol/L 阳性药物洛伐他汀的诱导分化培养基 I, 给药组分别加入 2 mL 含 5、10 $\mu\text{mol/L}$ 化合物的诱导分化培养基 I, 培养 48 h; 对照组继续更换 2 mL 新鲜的 DMEM 高糖培养基, 模型组换成 2 mL 诱导分化培养基 II (DMEM 高糖培养基中含牛胰岛素 10 $\mu\text{g/mL}$), 阳性对照组加入 2 mL 含 5 $\mu\text{mol/L}$ 阳性药物洛伐他汀的诱导分化培养基 II, 给药组分别加入 2 mL 含 5、10 $\mu\text{mol/L}$ 化合物的诱导分化培养基 II, 培养 48 h; 各组换为 2 mL DMEM 高糖培养基, 培养 48 h。在 3T3-L1 细胞诱导分化第 7 天, 弃去原培养基, 每孔加入 200 μL PBS 洗去残余培养基后, 弃去 PBS。根据文献报道的方法^[26], 使用 DMEM 高糖培养基配制含 1 $\mu\text{g/mL}$ 尼罗红染液, 每孔加入尼罗红染液 200 μL , 避光染色 10 min 后, 弃去尼罗红染液。每孔用 PBS 洗涤细胞 1 遍后, 再加 200 μL PBS。用酶标仪在激发波长 485 nm 和发射波长 572 nm 下检测各组 A 值, 并根据公式计算各组细胞中相对脂肪含量。用荧光显微镜观察并拍照。

$$\text{相对脂肪含量} = A_{\text{给药}} / A_{\text{模型}}$$

与对照组相比, 模型组细胞中的相对脂肪含量明显增加 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 化合物 1 在 5、10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 3T3-L1 细胞中脂肪的生成均有显

著的抑制作用 ($P < 0.01$ 、0.001), 而化合物 2 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下显示一定的抑制脂肪生成的作用 ($P < 0.05$), 结果见表 3。此外, 从图 4 可以看出, 采用尼罗红处理后, 经诱导分化后的各组细胞内积累的大量脂滴被染成红色。将各给药预处理组细胞的尼罗红染色程度与模型组细胞比较, 发现阳性药洛伐他汀、化合物 1 和 2 的细胞内脂滴均有不同程度地减少。综上所述, 化合物 1 和 2 均具有潜在的调脂活性。

表 3 化合物 1 和 2 对 3T3-L1 前脂肪细胞内相对脂肪含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of compounds 1 and 2 on relative fat content in 3T3-L1 preadipocytes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	给药浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	相对脂肪含量
对照		0.70 ± 0.02
模型		$1.00 \pm 0.03^{###}$
阳性对照	5	$0.77 \pm 0.00^{***}$
1	5	$0.86 \pm 0.01^{**}$
	10	$0.79 \pm 0.01^{***}$
2	5	0.94 ± 0.05
	10	$0.95 \pm 0.01^{*}$

与对照组比较: $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{***}P < 0.001$ $^{**}P < 0.01$ $^{*}P < 0.05$

$^{###}P < 0.001$ vs control group; $^{***}P < 0.001$ $^{**}P < 0.01$ $^{*}P < 0.05$ vs model group

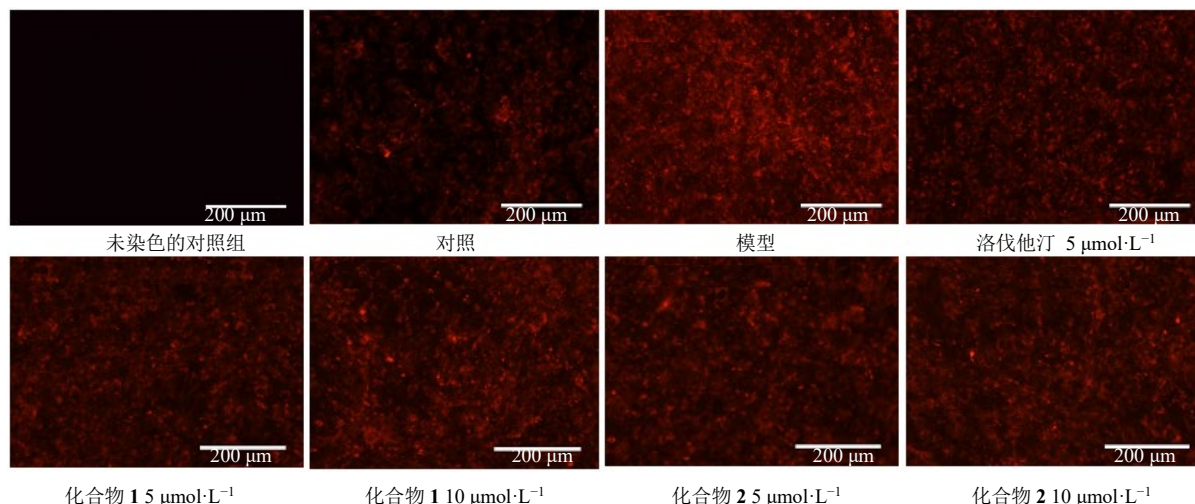


图 4 化合物 1 和 2 对 3T3-L1 细胞胰岛素抵抗模型中细胞形态和脂质积累的影响

Fig. 4 Effects of compounds 1 and 2 on cell morphology and lipid accumulation in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes

5 讨论

从莱菔子 70%乙醇提取物中分离得到 14 个化合物, 包括 2 个新的含硫衍生物, 5 个首次从莱菔子中分离得到的化合物。对这 2 个新化合物进行了

体外调脂活性筛选。结果表明, 化合物 1 和 2 均具有潜在的调脂活性, 其中化合物 1 较 2 在 5、10 $\mu\text{mol/L}$ 下显示出更好的调脂活性。本研究丰富了莱菔子的化学成分, 并用胰岛素抵抗模型评价了化合

物1和2的体外调脂活性,为莱菔子进一步的开发和利用提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 284.
- [2] 李亚楠, 邓明飞. 莱菔及莱菔子在消化系统疾病的临床应用进展 [J]. 新疆中医药, 2017, 35(2): 118-120.
- [3] 葛亚如, 郭炜, 董文亮, 等. 莱菔子降压机制研究与临床应用进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(12): 152-153.
- [4] Gao L, Li H, Li B Q, et al. Traditional uses, phytochemistry, transformation of ingredients and pharmacology of the dried seeds of *Raphanus sativus* L. (*Raphani Semen*), a comprehensive review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 294: 115387.
- [5] 李铁云, 李天国, 张国侠, 等. 莱菔子水溶性生物碱对自发性高血压大鼠降压作用的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(1): 25-28.
- [6] 王群, 孙忠迪, 刘梅, 等. 炒莱菔子中芥子碱对高血脂大鼠血脂水平的影响 [J]. 医学研究杂志, 2013, 42(5): 60-62.
- [7] 代孟孟, 张茜, 能纪娟, 等. 基于谱效关系探讨莱菔子促进肠运动活性成分 [J]. 山东中医药大学学报, 2021, 45(6): 806-815.
- [8] Pawlik A, Wała M, Hać A, et al. Sulforaphene, an isothiocyanate present in radish plants, inhibits proliferation of human breast cancer cells [J]. *Phytomedicine*, 2017, 29: 1-10.
- [9] Chen J, Bao C, Kim J T, et al. Sulforaphene inhibition of adipogenesis via hedgehog signaling in 3T3-L1 adipocytes [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(45): 11926-11934.
- [10] Liu Y L, Fu X Z, Chen Z Y, et al. The protective effects of sulforaphane on high-fat diet-induced obesity in mice through browning of white fat [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 665894.
- [11] Luang-In V, Narbad A, Nueno-Palop C, et al. The metabolism of methylsulfinylalkyl- and methylthioalkyl-glucosinolates by a selection of human gut bacteria [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58(4): 875-883.
- [12] Yu S H, Zhang S M, Li C H, et al. New alkyl (E)-5-(methylsulfinyl) pent-4-enoates from *Raphanus sativus* seeds [J]. *Revista Brasileira Farmacognosia*, 2020, 30(5): 715-717.
- [13] Hanschen F S, Lamy E, Schreiner M, et al. Reactivity and stability of glucosinolates and their breakdown products in foods [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(43): 11430-11450.
- [14] Textor S, de Kraker J W, Hause B, et al. MAM3 catalyzes the formation of all aliphatic glucosinolate chain lengths in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2007, 144(1): 60-71.
- [15] Kakizaki T, Kitashiba H, Zou Z W, et al. A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase mediates the biosynthesis of glucoraphasatin in radish [J]. *Plant Physiol*, 2017, 173(3): 1583-1593.
- [16] 张茜, 周洪雷, 李民, 等. 莱菔子化学成分研究 [J]. 山东中医杂志, 2018, 37(8): 684-687.
- [17] Chen M H, Gan L S, Lin S, et al. Alkaloids from the root of *Isatis indigotica* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(6): 1167-1176.
- [18] Tuan C D, Minh L T H, Lien H T H, et al. A new indole glucoside and other constituents from the sea cucumber-derived *Aspergillus fumigatus* M580 and their antimicrobial, cytotoxic, and inhibitory α -glucosidase activities [J]. *Rec Nat Prod*, 2022(6): 633-638.
- [19] Kong D G, Yu S H, Tian J L, et al. Phytochemical investigation on *Raphanus sativus* L. [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2022, 105: 104488.
- [20] 刘晏灵, 郭孟焕, 曹彦刚, 等. 零余子化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2022, 57(11): 890-895.
- [21] 邵东旭, 郑冬梅, 胡锐, 等. 剑叶金鸡菊化学成分及生物活性研究 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1558-1561.
- [22] 王富强, 孙立秋, 王金兰, 等. 兔儿伞化学成分研究(II) [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2878-2885.
- [23] 张婷婷, 周巍, 李达翊, 等. 川八角莲化学成分的分离与结构鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2015, 25(6): 457-460.
- [24] Shim E H, Lee H, Lee M S, et al. Anti-adipogenic effects of the traditional herbal formula Dohongsamul-Tang in 3T3-L1 adipocytes [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 1-10.
- [25] Zebisch K, Voigt V, Wabitsch M, et al. Protocol for effective differentiation of 3T3-L1 cells to adipocytes [J]. *Anal Biochem*, 2012, 425(1): 88-90.
- [26] Zhang P, Su L, Ji X, et al. Cistanche promotes the adipogenesis of 3T3-L1 preadipocytes [J]. *PLoS One*, 2022, 17(3): e0264772.

[责任编辑 王文倩]