

## 佛手中的两个新糖苷类化合物

苗瀟瀟<sup>1</sup>, 夏格格<sup>1</sup>, 赵格格<sup>1</sup>, 郑玉忠<sup>2</sup>, 王彦志<sup>1\*</sup>

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 韩山师范学院食品工程与生物技术学院, 广东省粤东药食资源功能物质与治未病研究重点实验室, 广东 潮州 521041)

**摘要:** 采用 MCI Gel CHP-20、ODS、Sephadex LH-20 和硅胶等方法, 结合制备薄层和半制备液相色谱对佛手 85% 醇提物的乙酸乙酯部位进行分离纯化, 从中得到 6 个化合物, 通过 NMR、HR-ESI-MS、UV 和 IR 等方法鉴定其结构为 citrusin G (**1**)、citrusin H (**2**)、citrusin E (**3**)、紫丁香酚苷 (**4**)、松柏苷 (**5**)、甲基松柏苷 (**6**)。其中化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, **3**~**6** 均为首次从佛手中分离得到。化合物 **1** 在 TGF- $\beta$ 1 诱导大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52e) 肾纤维化体外模型上显示抗肾纤维化活性。

**关键词:** 佛手; 化学成分; 分离鉴定; 糖苷

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2025)01-0196-05

## Two new glycosides from the *Citri Sarcodactylis Fructus*

MIAO Jing-jing<sup>1</sup>, XIA Ge-ge<sup>1</sup>, ZHAO Ge-ge<sup>1</sup>, ZHENG Yu-zhong<sup>2</sup>, WANG Yan-zhi<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. School of Food Engineering and Biotechnology, Hanshan Normal University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Functional Substances in Medicinal Edible Resources and Healthcare Products, Chaozhou 521041, China)

**Abstract:** Six compounds were isolated from the ethyl acetate fraction of *Citri Sarcodactylis Fructus* by using various column chromatographic methods, such as MCI Gel CHP-20, ODS, Sephadex LH-20, silica gel and semipreparative HPLC. Their structures were identified to be citrusin G (**1**), citrusin H (**2**), citrusin E (**3**), syringin (**4**), coniferin (**5**), methylconiferin (**6**) by NMR, HR-ESI-MS, UV, IR spectra. Compounds **1** and **2** were new secondary metabolism products and **3**-**6** were obtained from the titled material for the first time. Compound **1** showed anti-renal fibrosis activity in TGF- $\beta$ 1-induced kidney proximal tubular cells.

**Key words:** *Citri Sarcodactylis Fructus*; chemical composition; separation and identification; glycoside

中药佛手 (*Citri Sarcodactylis Fructus*) 又名佛手柑、五指橘、飞穰等<sup>[1]</sup>, 为芸香科植物佛手 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) 的干燥果实, 味辛、苦、酸、温, 归肝、脾、胃、肺经<sup>[2]</sup>, 为传统药食同源中药材之一。历代本草中记载佛手具有疏肝理气、和中止痛、化痰止咳等功效<sup>[3]</sup>。现代药理及化学研究表明, 佛手具

有抗炎<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、降血脂<sup>[6]</sup>、抗抑郁<sup>[7]</sup>、抗菌<sup>[8]</sup>和调节血糖<sup>[9]</sup>等多方面的药理活性, 主要含有黄酮类、香豆素类、多糖、挥发油类成分<sup>[10]</sup>。佛手作为食品和药品应用广泛, 其炮制品“老香黄”在粤东地区家喻户晓, 称为“潮州三宝”之一。对于生品其药效及化学研究多集中于黄酮、挥发油和总多糖等成分, 功效相关物质不够明确, 而炮制品的特有药效物质更不清楚, 因此本课题以生佛手为研究对象, 从其乙酸乙酯部位分离纯化得到的 6 个糖苷类化合物 (图 1), 化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, **3**~**6** 均为首次从佛手中分离得到。

收稿日期: 2024-08-05; 修回日期: 2024-10-26.

基金项目: 广东省粤东药食资源功能物质与治未病研究重点实验室 (2021B1212040015).

\*通讯作者 Tel: 86-371-65962746, E-mail: wangyz@hactcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0753

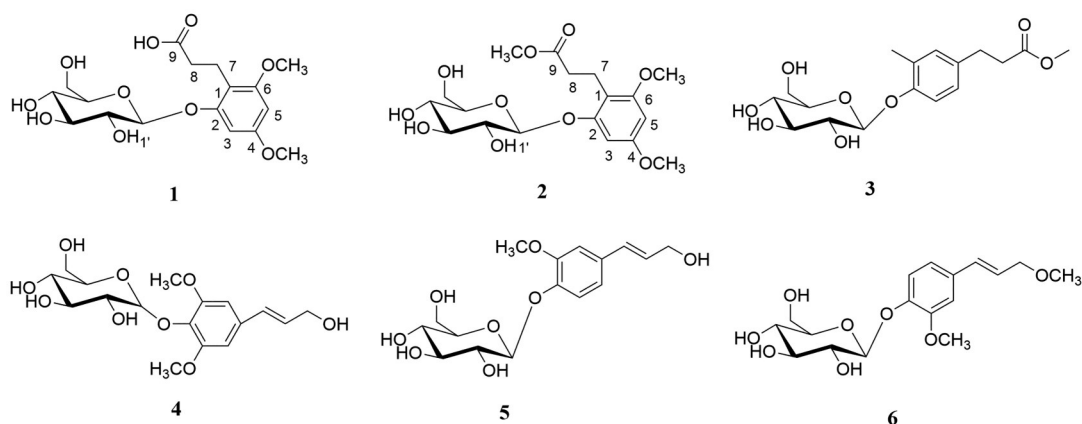


Figure 1 Structures of compounds 1–6

## 结果与讨论

### 1 结构鉴定

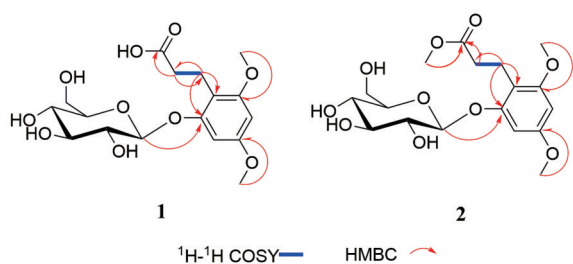
化合物**1**为淡黄色粉末, HR-ESI-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$  411.126 0 (计算值  $C_{17}H_{24}O_{10}Na$  411.126 2) 推测分子式为  $C_{17}H_{24}O_{10}$ 。其  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 500 MHz) 谱 (表 1) 中显示两个芳香氢信号 [ $\delta_H$  6.45 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-5), 6.23 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-3)], 两个甲氧基氢信号 [ $\delta_H$  3.78 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.76 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>)], 两个亚甲基氢信号 [ $\delta_H$  2.91 (2H, m, H-7), 2.38 (2H, m, H-8)] 和一组葡萄糖氢信号 [ $\delta_H$  4.83 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'), 3.90 (1H, dd,  $J = 12.0, 2.3$  Hz, H-6'a), 3.68 (1H, dd,  $J = 12.0, 5.9$  Hz, H-6'b), 3.34~3.53 (4H, m, H-2'-5')];  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 125 MHz) 谱 (表 1) 结合 HMBC 谱共观察到 17 个碳信号, 包括一个羰基信号 [ $\delta_C$  179.1 (C-9)], 一个苯环碳信号 [ $\delta_C$  112.5 (C-1), 158.1 (C-2), 93.8 (C-3), 160.1 (C-4), 94.9 (C-5), 160.9 (C-6)], 两个亚甲基碳信

号 [ $\delta_C$  20.3 (C-7), 36.7 (C-8)] 和两个甲氧基碳信号 [ $\delta_C$  56.0 (4-OCH<sub>3</sub>), 55.8 (6-OCH<sub>3</sub>)] 以及一组葡萄糖碳信号 [ $\delta_C$  103.1 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.6 (C-6')]. 在  $^1H$ - $^1H$  COSY 谱中出现 H<sub>2</sub>-7 ( $\delta_H$  2.91) 与 H<sub>2</sub>-8 ( $\delta_H$  2.38) 的相关信号 (图 2), 说明存在自旋偶合系统-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-。HMBC 谱中存在 H<sub>2</sub>-8 ( $\delta_H$  2.38) 与 C-7 ( $\delta_C$  20.3) 和 C-9 ( $\delta_C$  179.1) 的相关信号, 以及 H<sub>2</sub>-7 ( $\delta_H$  2.91) 与 C-1 ( $\delta_C$  112.5), C-2 ( $\delta_C$  158.1) 和 C-8 ( $\delta_C$  36.7) 的相关信号, 证明了苯环 C-1 位丙酸基片段的存。通过 HMBC 谱中 H-1' ( $\delta_H$  4.83)/C-2 ( $\delta_C$  158.1), 4-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3.78)/C-4 ( $\delta_C$  160.1), 6-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3.76)/C-6 ( $\delta_C$  160.9) 的相关信号确定了葡萄糖基和两个甲氧基的位置。通过酶水解确定葡萄糖绝对构型为 *D* 型, 同时根据端基氢的偶合常数  $J = 7.5$  Hz 推断为  $\beta$  构型。由此确定化合物**1** 结构如图 1 所示, 命名为 citrusin G。

化合物**2**为淡黄色粉末, HR-ESI-MS  $[M+Na]^+$   $m/z$

Table 1  $^1H$  (500 MHz) NMR and  $^{13}C$  (125 MHz) NMR data of compounds 1 and 2 (in  $CD_3OD$ )

No.	1		2	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$
1		112.5		111.6
2		158.1		158.1
3	6.23 (1H, d, $J = 2.3$ Hz)	93.8	6.24 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	93.8
4		160.1		160.1
5	6.45 (1H, d, $J = 2.3$ Hz)	94.9	6.45 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	95.1
6		160.9		161.2
7	2.91 (2H, t, $J = 8.1$ Hz)	20.3	2.92 (2H, t, $J = 7.0$ Hz)	19.6
8	2.38 (2H, t, $J = 8.1$ Hz)	36.7	2.47 (2H, m)	34.8
9		179.1		176.5
1'	4.83 (1H, d, $J = 7.5$ Hz)	103.1	4.84 (1H, d, $J = 7.3$ Hz)	102.9
2'	3.47 (1H, dd, $J = 8.9, 7.1$ Hz)	74.9	3.47 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)	75.0
3'	3.42 (1H, m)	78.3	3.41 (1H, t, $J = 8.3$ Hz)	78.3
4'	3.38 (1H, m)	71.5	3.37 (1H, m)	71.5
5'	3.45 (1H, m)	78.1	3.45 (1H, m)	78.2
6'a	3.90 (1H, dd, $J = 12.0, 2.3$ Hz)	62.6	3.90 (1H, dd, $J = 12.0, 2.3$ Hz)	62.6
6'b	3.68 (1H, dd, $J = 12.0, 5.9$ Hz)		3.68 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz)	
4-OCH <sub>3</sub>	3.78 (3H, s)	56.0	3.78 (3H, s)	56.1
6-OCH <sub>3</sub>	3.76 (3H, s)	55.8	3.76 (3H, s)	55.8
9-OCH <sub>3</sub>			3.64 (3H, s)	52.1

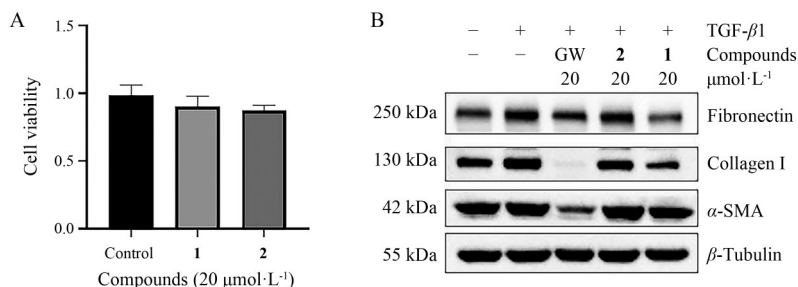


**Figure 2** Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY and HMBC correlations of compounds **1** and **2**

425.141 9 (计算值  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_{10}\text{Na}$  425.141 8) 推测分子式为  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$ 。比较化合物 **1** 和 **2** 的 1D 和 2D NMR 数据, 发现二者结构相似, 区别在于化合物 **2** 的 C-9 位羟基被甲氧基取代。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) 谱 (表 1) 中 [3.64 (3H, s, 9-OCH<sub>3</sub>)] 和  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) 谱 (表 1) 中 [52.1 (9-OCH<sub>3</sub>)] 结合 HMBC 谱中, H<sub>2</sub>-7 ( $\delta_{\text{H}}$  2.92) 与 C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  111.6), C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  158.1) 和 C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  34.8) 存在相关信号, H<sub>2</sub>-8 ( $\delta_{\text{H}}$  2.47) 和 9-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.64) 均与 C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  176.5) 存在相关信号, 提示丙酸基的羧基被甲基化且 C<sub>7</sub>-C<sub>9</sub> 片段与苯环的 C-1 位相连; H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4.84) 与 C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  158.1) 存在 HMBC 相关信号, 提示葡萄糖片段与苯环的 C-2 位相连; H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  6.45) 和 C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  111.6)、C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  93.8) 以及 H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6.24) 和 C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  111.6)、C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  95.1) 的 HMBC 相关信号证明了 3/5 位两个芳氢的存在。4-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.78) 与 C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  160.1), 6-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  3.76) 与 C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  161.2) 存在相关信号证明了两个甲氧基的位置 (图 2)。通过酶水解确定葡萄糖绝对构型为 D 型, 同时根据端基氢的耦合常数  $J = 7.3$  Hz 推断为  $\beta$  构型。综上所述确定化合物 **2** 结构如图 1 所示, 命名为 citrusin H。

## 2 体外抗肾纤维化活性筛选

通过建立 TGF- $\beta$ 1 诱导的大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52e) 肾纤维化体外模型, 对佛手乙酸乙酯部位中分离得到的化合物 **1** 和 **2** 的生物学效应进行测试。纤维连接蛋白 (fibronectin)、I 型胶原蛋白 (collagen I) 和  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 为本实验的特征标记物。



**Figure 3** Compounds **1** and **2** inhibit fibrosis in TGF- $\beta$ 1 induced NRK-52e cells. A: Cytotoxicity determinations at  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  determined by CCK-8; B: Anti-renal fibrosis activities determined by Western blot ( $\beta$ -tubulin as an internal control, GW788388 as a positive control)

首先使用 CCK-8 试剂盒测定化合物处理过的细胞活性, 结果表明化合物 **1** 和 **2** 在  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时对细胞活力影响较小 (图 3A), 因此用  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  测定抗肾纤维化作用。用 Western blot 检测化合物 **1** 和 **2** 对 TGF- $\beta$ 1 诱导的 NRK-52e 细胞的保护作用, 实验结果表明, 化合物 **1** 在  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下显著抑制了 fibronectin 和 collagen I 的表达 (图 3B)。

## 实验部分

BrukerAM-500MHz 超导核磁共振仪 (TMS 内标, 德国 Bruker 公司); Triple TOF 6600 型高效液相色谱-四极杆飞行时间高分辨质谱联用仪 (美国 AB SCIEX 公司); EVO300 紫外分光光度计和 Nicolet IS10 红外光谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); Autopol IV 全自动旋光仪 (美国 Rudolph 公司); LC-52 型半制备液相色谱仪 (赛谱锐思北京科技有限公司); N-1100 型旋转蒸发仪和 EYELACA-3310 型低温冷凝循环泵 (东京理化器械株式会社); 原子型 1820C 型纯水机 (重庆摩尔水处理设备有限公司); Cholesterol 柱 ( $250 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ , 日本 COSMOSIL 有限公司); MCIGel CHP-20 柱色谱材料 (日本三菱化学公司); SephadexLH-20 柱色谱材料 (美国 GE Healthcare 公司); 正相硅胶柱色谱材料 (200~300 目) 和 GF254 硅胶薄层板 (中国青岛海洋化工厂)。

佛手购自广东省肇庆市, 经韩山师范学院郑玉忠教授鉴定为芸香科植物佛手 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) 的干燥果实, 干燥标本保存于河南中医药大学中药药效物质基础研究室 (标本号: FS202204ZQ)。

## 1 提取分离

20 kg 佛手 6 倍量 85% 乙醇浸泡三次, 所得提取液减压浓缩后得到总浸膏 (10 kg), 加水分散后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 浓缩萃取液得到乙酸乙酯部位 (170 g)、正丁醇部位 (2 kg) 和水部位 (8 kg)。乙酸乙酯部位上 MCI 柱, 用乙醇-水系统 (20:80~95:5)

梯度洗脱后,依次得到20%乙醇部位(49 g)、30%乙醇部位(14 g)、40%乙醇部位(19 g)、50%乙醇部位(17 g)、60%乙醇部位(23 g)、70%乙醇部位(24 g)、80%乙醇部位(5 g)和95%乙醇部位(20 g)。20%乙醇部位(49 g)经 Toyopearl HW-40C 柱,以甲醇-水(0:100~100:0)梯度洗脱得到5个组分 Fr.A.1~Fr.A.5。Fr.A.1(25 g)经 SephadexLH-20 柱色谱用甲醇-水(0:100~100:0)梯度洗脱,得到 Fr.A.1.1~Fr.A.1.4 共4个组分。Fr.A.1.1(20 g)经硅胶柱色谱(200~300目)用二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱,得到 Fr.A.1.1.1~Fr.A.1.1.10 共10个组分。Fr.A.1.1.8(2 g)经硅胶柱色谱(200~300目)用二氯甲烷-甲醇(50:1~0:100)梯度洗脱,得到 Fr.A.1.1.8.1~Fr.A.1.1.8.5 共5个组分。Fr.A.1.1.8.3(1 g)上 ODS 柱色谱,以甲醇-水(5:95~100:0)梯度洗脱,得到10个组分 Fr.A.1.1.8.3.1~Fr.A.1.1.8.3.10。Fr.A.1.1.8.3.10(25 mg)经半制备高效液相纯化,得到化合物4(乙腈-水12:88, 3.0 mL·min<sup>-1</sup>,  $t_R = 17.7$  min, 2 mg)。Fr.A.1.1.9(2 g)经硅胶柱色谱(200~300目)用二氯甲烷-甲醇(50:1~0:100)梯度洗脱,得到 Fr.A.1.1.9.1~Fr.A.1.1.9.4 共4个组分。Fr.A.1.1.9.3(134 mg)经半制备高效液相纯化,得到化合物2(乙腈-水24:76, 3.0 mL·min<sup>-1</sup>,  $t_R = 28.3$  min, 5 mg)和化合物3(乙腈-水24:76, 3.0 mL·min<sup>-1</sup>,  $t_R = 20.8$  min, 35 mg)。Fr.A.1.1.9.4(134 mg)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(5:95~100:0)梯度洗脱,得到10个组分 Fr.A.1.1.9.4.1~Fr.A.1.1.9.4.10。Fr.A.1.1.9.4.1(75 mg)经半制备高效液相纯化,得到化合物5(乙腈-水14:86, 3.0 mL·min<sup>-1</sup>,  $t_R = 11.748$  min, 9 mg)。Fr.A.1.2(2 g)经硅胶柱色谱(200~300目)用二氯甲烷-甲醇(50:1~0:100)梯度洗脱,得到 Fr.A.1.2.1~Fr.A.1.2.6 共6个组分。Fr.A.1.2.6(77 mg)经半制备高效液相纯化,得到化合物1(乙腈-水19:81, 3.0 mL·min<sup>-1</sup>,  $t_R = 19.1$  min, 13 mg)。Fr.A.2(7.1 g)经硅胶柱色谱(200~300目)用二氯甲烷-甲醇(50:1~0:100)梯度洗脱,得到 Fr.A.2.1~Fr.A.2.4 共4个组分。Fr.A.2.4(3 g)上 ODS 柱色谱,以甲醇-水(5:95~100:0)梯度洗脱,得到8个组分 Fr.A.2.4.1~Fr.A.2.4.8。Fr.A.2.4.1(54 mg)经半制备高效液相纯化,得到化合物6(甲醇-水35:65, 3.0 mL·min<sup>-1</sup>,  $t_R = 14.9$  min, 2 mg)。

## 2 化合物1、2的酶水解和衍生化

称取化合物1.0 mg,加入2.0 mg 蜗牛酶和3 mL 蒸馏水,37 °C 水浴加热48 h。向干燥后的混合物中加1 mL 蒸馏水,用等体积乙酸乙酯萃取3次。水层浓缩干燥后加L-半胱氨酸甲酯盐酸盐1 mg,吡啶1 mL,在60 °C下加热1.5 h。加入邻甲苯异硫氰酸酯20 μL,60 °C

加热1.5 h。LC-MS 分析混合物,色谱条件:Agilent Eclipse XDS-C18 (3.5 μm, 3.0 mm×150 mm); 等度洗脱:水(A)-甲醇(B),0~28 min,40% B;柱温40 °C,流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>;质谱条件:正离子模式。化合物1( $t_R = 11.91$  min)、2( $t_R = 11.93$  min)与D-葡萄糖标准品( $t_R = 12.00$  min)的保留时间基本一致,鉴定化合物1和2中葡萄糖的绝对构型为D型。

## 3 结构鉴定

化合物1为淡黄色粉末,  $[\alpha]_D^{20} - 25.0$  (c 0.10, MeOH); IR (MeOH)  $\nu_{\max}$  3 244、1 613、1 456、1 202 cm<sup>-1</sup>; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 209.0 (2.536) nm, HR-ESI-MS  $m/z$  411.126 0 [M+Na]<sup>+</sup>, 计算值为411.126 2。<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 数据见表1。

化合物2为淡黄色粉末,  $[\alpha]_D^{20} - 37.0$  (c 0.10, MeOH); IR (MeOH)  $\nu_{\max}$  3 411、1 612、1 659、1 607、1 458、1 177、1 035 cm<sup>-1</sup>; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ): 211.0 (2.814) nm, HR-ESI-MS  $m/z$  425.141 9 [M+Na]<sup>+</sup>, 计算值为425.141 8。<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 数据见表1。

化合物3为淡黄色结晶,易溶于甲醇,ESI-MS  $m/z$  395.130 9 [M+Na]<sup>+</sup>, 化合物分子式为C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz CD<sub>3</sub>OD) 谱中,  $\delta_H$  7.02 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 6.78 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-2), 6.51 (1H, dd,  $J = 8.4$ , 2.5 Hz, H-6), 4.88 (1H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-1'), 3.90 (1H, dd,  $J = 12.1$ , 2.2 Hz, H-6'a), 3.75 (3H, s, 9-OCH<sub>3</sub>), 3.69 (1H, dd,  $J = 12.1$ , 5.8 Hz, H-6'b), 3.63 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.42~3.48 (4H, m, H-2'-5'), 2.90 (2H, m, H-7), 2.61 (2H, m, H-8); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz) 谱中,  $\delta_C$  131.3 (C-1), 108.5 (C-2), 160.9 (C-3), 157.7 (C-4), 103.2 (C-5), 123.2 (C-6), 35.5 (C-7), 26.3 (C-8), 175.9 (C-9), 52.0 (3-OCH<sub>3</sub>), 55.8 (9-OCH<sub>3</sub>), 102.7 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.4 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上 NMR 数据与文献<sup>[11]</sup>报道的 citrusin E 基本一致。

化合物4为白色粉末,易溶于甲醇,ESI-MS  $m/z$  395.129 4 [M+Na]<sup>+</sup>, 化合物分子式为C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz CD<sub>3</sub>OD) 谱中,  $\delta_H$ : 6.75 (1H, s, H-2, 6), 6.55 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7), 6.33 (1H, dd,  $J = 15.8$ , 6.4 Hz, H-8), 4.87 (1H, s, H-1'), 4.22 (2H, dd,  $J = 5.5$ , 1.6 Hz, H-9), 3.86 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.78 (1H, dd,  $J = 12.0$ , 2.4 Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd,  $J = 12.0$ , 5.2 Hz, H-6'b), 3.41-3.48 (3H, m, H-2'-4'), 3.21 (1H, dd,  $J = 7.5$ , 2.3 Hz, H-5'); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz) 谱中,  $\delta_C$ : 135.3 (C-1), 105.5 (C-2), 154.4 (C-3), 135.9 (C-4), 154.4 (C-5), 105.5 (C-6), 131.3 (C-7), 130.0 (C-8),  $\delta_C$  63.6 (C-9), 57.0 (3, 5-OCH<sub>3</sub>), 105.3 (C-1'), 75.7 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.3 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上 NMR 数据与

文献<sup>[12]</sup>报道的紫丁香酚苷基本一致。

化合物 **5** 为白色粉末, 易溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$  365.119 5  $[M+Na]^+$ , 化合物分子式为  $C_{16}H_{22}O_8$ 。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz  $CD_3OD$ ) 谱中,  $\delta_H$  7.11 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 7.07 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.95 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-6), 6.54 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7), 6.28 (1H, dd,  $J = 15.9, 5.7$  Hz, H-8), 4.89 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 4.21 (2H, dd,  $J = 5.8, 1.6$  Hz, H-9), 3.87 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.69 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.8$  Hz, H-6'b), 3.33~3.55 (4H, m, H-2'-5'); <sup>13</sup>C NMR ( $CD_3OD$ , 125 MHz) 谱中,  $\delta_C$  133.7 (C-1), 111.4 (C-2), 150.9 (C-3), 147.6 (C-4), 117.9 (C-5), 120.7 (C-6), 131.3 (C-7), 128.9 (C-8), 63.7 (C-9), 56.7 (3-OCH<sub>3</sub>), 102.7 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.3 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上 NMR 数据与文献<sup>[13]</sup>报道的松柏苷基本一致。

化合物 **6** 为白色粉末, 易溶于甲醇, ESI-MS  $m/z$  379.136 2  $[M+Na]^+$ , 化合物分子式为  $C_{17}H_{24}O_8$ 。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz  $CD_3OD$ ) 谱中,  $\delta_H$  7.11 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 7.08 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 6.96 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-6), 6.58 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-7), 6.23 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8), 4.89 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 4.08 (1H, dd,  $J = 12.1, 2.2$  Hz, H-6'a), 3.88 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.86 (1H, dd,  $J = 12.1, 5.7$  Hz, H-6'b), 3.69 (2H, dd,  $J = 12.0, 4.4$  Hz, H-9), 3.33~3.50 (4H, m, H-2'-5'), 3.37 (3H, s, 9-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz  $CD_3OD$ ) 谱中,  $\delta_C$  134.1 (C-1), 110.3 (C-2), 150.3 (C-3), 147.9 (C-4), 116.2 (C-5), 118.4 (C-6), 133.7 (C-7), 126.0 (C-8), 74.2 (C-9), 58.1 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.7 (9-OCH<sub>3</sub>), 103.1 (C-1'), 75.4 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.3 (C-4'), 78.2 (C-5'), 63.0 (C-6')。以上 NMR 数据与文献<sup>[14]</sup>报道甲基松柏苷基本一致。

#### 4 体外抗肾纤维化活性筛选

抗肾纤维化活性评价实验方法与课题组之前研究<sup>[15]</sup>一致。

**作者贡献:** 王彦志负责实验设计; 苗瀚瀚负责化学实验实施、数据处理和论文撰写; 夏格格负责生物实验实施及数据处理; 赵格格参与实验实施; 王彦志和郑玉忠负责文章的审阅和提出论文写作的建议。

**利益冲突:** 作者声明无利益冲突。

#### References

- [1] Lin HX, Luo HL, Zhu MF, et al. Comparative analysis of volatile oil components of green and yellow Citri Sarcodactylis Fructus by GC-MS [J]. Chin J Pharm Econ (中国药物经济学), 2023, 18: 118-121.
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 273-274.
- [3] Li WJ, Zhang DY, Meng J, et al. Processing of Citri Sarcodactylis Fructus: a review [J]. Chin J Clin Pharmacol (中国实验方剂学杂志), 2022, 28: 262-269.
- [4] Ferlazzo N, Visalli G, Smeriglio A, et al. Flavonoid fraction of orange and bergamot juices protect human lung epithelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015: 14-30.
- [5] Delle M, Sanità P, Trapasso E, et al. Mechanisms underlying the anti-tumoral effects of Citrus Bergamia juice [J]. PLoS One, 2013, 8: e61484.
- [6] Di D, Iacopetta D, Cappello A, et al. Hypocholesterolaemic activity of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl flavanones enriched fraction from bergamot fruit (Citrus bergamia): "in vivo" studies [J]. J Funct Foods, 2014, 7: 558-568.
- [7] Saiyudthong S, Mekseepralarad C. Effect of inhaling bergamot oil on depression-related behaviors in chronic stressed rats [J]. J Med Assoc Thai, 2015, 9: 152-159.
- [8] Fisher K, Phillips C. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of Campylobacter jejuni, Escherichia coli O157, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus and Staphylococcus aureus in vitro and in food systems [J]. J Appl Microbiol, 2006, 101: 1232-1240.
- [9] Yang YJ, Liu H, Wang SH, et al. Hypoglycemic effect and mechanism of polysaccharides from finger citron from Guangdong province based on enzyme activities and cell model [J]. Food Sci (食品科学), 2022, 43: 149-157.
- [10] He J, Shang FH, Li LY, et al. Establishment of fingerprints and spectrum-effect relationship of antioxidant activity of Citri Sarcodactylis Fructus [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 7841-7852.
- [11] Yoshiharu M, Takehiko Y, Akiyoshi S, et al. Structure and physiological activity of phenyl propanoid glycosides in lemon (Citrus limon BURM. f.) peel [J]. Agric Biol Chem, 1991, 55: 647-650.
- [12] Guo S, Liu Y, Guan W, et al. Study on phenylpropanoids from the stem barks of Syringa reticulata [J]. Inf Tradit Chin Med (中医药信息), 2021, 38: 17-22.
- [13] Sticher O, Lahloub MF. Phenolic glycosides of Paulownia tomentosa bark [J]. Planta Med, 1982, 46: 145-148.
- [14] Shen XL, Hu YJ, Shen YM, et al. Studies on the chemical constituents of involucre balanophore (Balanophora involucre) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1996, 27: 259-260.
- [15] Zhu YT, Liu XN, Lu BT, et al. Novel sesquiterpenoids with renoprotective activities from the fruits of Alpinia oxyphylla as potent TGF- $\beta$ 1/Smads phosphorylation inhibitors [J]. J Agric Food Chem, 2024, 72: 13138-13153.