

广佛手化学成分分析及一氧化氮生成抑制活性研究

程忠泉¹, 陈伟洪¹, 周伟平¹, 李智斌¹, 杨丹^{2*}

¹广州卫生职业技术学院药学院, 广州 510450; ²广东医科大学药学院, 东莞 523808

摘要:为研究广佛手果实化学成分及其提取物的抗炎活性,经95%乙醇提取后,石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,石油醚萃取部分用气相色谱-质谱仪联用法(GC-MS)研究广佛手果实低极性成分,乙酸乙酯萃取部分进行化学成分研究,并对石油醚萃取物、乙醇总提物的一氧化氮(NO)生成抑制活性进行筛选。广佛手果实石油醚萃取的低极性成分经GC-MS检出,匹配度大于85%的化合物有57种,相对含量占72.50%。相对含量较大的有(*E*)-5-十二碳烯(5.61%)、5,7-二甲氧基-2H-1-苯并吡喃-2-酮(5.34%)、(*Z,Z*)-9,12-十八碳二烯酸(4.72%)等。乙酸乙酯萃取部分进行化学成分分离纯化,得到4个化合物,分别鉴定为柠檬内酯(1)、6,7-二甲氧基香豆素(2)、 β -谷甾醇(3)和豆甾醇(4)。抗炎活性研究结果表明,在浓度为50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,石油醚萃取物、乙醇总提物的NO生成抑制率分别为(23.40 \pm 2.50)%、(7.89 \pm 1.28)%,具有一定的抗炎活性。本文通过对广佛手果实的化学成分研究、低极性成分的GC-MS分析及一氧化氮(NO)生成抑制活性筛选,进一步验证了其抗炎活性,为该药材的开发利用和质量评价提供依据。

关键词:广佛手;低极性成分;柠檬内酯;GC-MS;抗炎活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)Suppl-0064-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.S.008

Chemical constituents analysis of *Citrus medica* fruit and their inhibitory activity on nitric oxide production

CHENG Zhong-quan¹, CHEN Wei-hong¹,
ZHOU Wei-ping¹, LI Zhi-bin¹, YANG Dan^{2*}

¹School of Pharmacy, Guangzhou Health Science College, Guangzhou 510450, China;

²School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China

Abstract: To study the chemical constituents and anti-inflammatory activity of the fruit of *Citrus medica*. The fruit of *C. medica* was extracted with 95% ethanol, followed by extraction with petroleum ether, ethyl acetate, and n-butanol, successively. GC-MS was used to analyze and identify the chemical composition of the petroleum ether extract, and the chemical composition of the ethyl acetate extract and their inhibition on nitric oxide production was studied. Through GC-MS analysis, there were 57 compounds of the fruit of *C. medica* with a matching degree greater than 85%, which accounting for 72.50% of the petroleum ether extract. The main components were (*E*)-5-dodecene (5.61%), 5,7-dimethoxy-2H-1-benzopyran-2-one (5.34%), (*Z,Z*)-9,12-octadecanedioic acid (4.72%), etc. Investigation of the EtOAc fraction afforded four compounds, identified as limettin (1), 6,7-dimethoxycoumarin (2), β -sitosterol (3) and stigmasterol (4). An assay of the inhibition of NO production with RAW 264.7 cells indicated that the petroleum ether extract and the total ethanol extract showed moderate activity with the inhibition rates of (23.40 \pm 2.50)% and (7.89 \pm 1.28)% at 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. This article further validates the anti-inflammatory activity of the fruit of *C. medica* by studying its chemical composition, analyzing its components by GC-MS, and screening for the inhibition of NO production, and provides a basis for the development, utilization, and quality evaluation of this medicinal herb.

Key words: *Citrus medica*; low-polarity components; limettin; GC-MS; anti-inflammatory activity

收稿日期:2024-04-15

接受日期:2024-05-30

基金项目:广州市教育局高校科研项目(202235420,202032873,202032865);广东省普通高校特色创新类项目(2022KTSCX306);广东省普通
高校青年创新人才项目(2020KQNCX201);广东省中医药局科研项目(20231228)

*通信作者 E-mail:czq-0201@163.com

广佛手为芸香科(Rutaceae)柑橘属植物佛手(*Citrus medica* L.)干燥果实。广佛手又称佛手柑、密萝柑、福寿柑、五指柑等,为不规则分枝的灌木或小乔木。果皮淡黄色,粗糙,甚厚或颇薄,果肉无色,近于透明或淡乳黄色,爽脆,味酸或略甜,有香气。花期4~5月,果期10~11月。产于广东、广西、四川、福建、云南等地^[1]。根据产地不同,通常产自两广地区的佛手为广佛手。广佛手干片有清香,味略苦而微甜,性温,无毒。理气宽中,消胀降痰,用于肝胃气滞,胸胁胀痛,胃脘痞满,食少呕吐,咳嗽痰多^[2]。

广佛手含黄酮、香豆素、挥发油等,具有抗炎、抗肿瘤、调节血糖、降血脂、抗动脉硬化、杀虫抗螨活性、抗抑郁、抗氧化、抗菌等多种活性^[3-5]。现代药理研究也证实其有平喘止咳、消炎抗菌、抗肿瘤、降血脂、抗氧化等作用^[6-7]。广佛手作为传统的药食两用植物,亦有着很高的食用价值。其精油能起到缓解疲劳、舒缓情绪等作用,在食品、药品、化妆品等领域均有着广泛应用^[8]。目前对佛手活性成分的研究主要集中在黄酮及其苷类、香豆素类及多糖类化合物^[9],而对石油醚萃取部分的低极性成分研究较少。

佛手的抗炎活性研究多采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导肺上皮细胞 A549 构建炎症模型^[10],或用油酸(oleic acid, OA)诱导新西兰兔耳构建痤疮模型^[11]。本文采用一氧化氮(nitric oxide, NO)生成抑制活性,研究广佛手不同萃取部分的抗炎活性。本文从不同角度对该植物化学成分及抗炎活性进行研究,结果表明,广佛手低极性化学成分与文献记录有明显的差异。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

广佛手于2022年9月采自广东肇庆,经亳州植药农业技术有限责任公司娄安瑞研究员鉴定为兰科石斛属植物广佛手(*Citrus medica* L.)的果实。新鲜广佛手切片,自然晾干备用,植物样本存放于广东医科大学药学院322 科室(标本编号 YDCMF1)。

小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7(中科院上海细胞库);DMEM 培养基和胎牛血清(BI 公司,批号:03-007-1A);Griess Reagent(批号:G4410-10G)、LPS(批号:L8880,纯度>98%)、对照药物 L-NMMA(批号:S0011,纯度>99%)(Sigma 公司)。

Agilent 7890A/5975 C 气相色谱质谱联用仪

(美国安捷伦公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理方法

广佛手切片,自然晾干(10 kg)后切小粒,95%乙醇回流提取3次,每次2 h,减压回收乙醇得浸膏,加入适量水混悬后,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,浓缩得3种萃取物。取少量石油醚浸膏,1 mL 正己烷溶解,溶液经0.45 μm 微孔滤膜过滤,干燥后作为广佛手低极性 GC-MS 分析样品。

对乙酸乙酯萃取物(取121 g)进行硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(0%→100%),得5个组分。组分2浓缩后用乙酸乙酯重结晶得晶体化合物1(51.3 mg)。其母液浓缩至干,以甲醇溶解,过滤后经半制备 HPLC 分离纯化,以甲醇-水(80%→50%)梯度洗脱,收集合并组分,浓缩后得到化合物2(22.5 mg)。组分3经凝胶柱色谱,氯仿:甲醇(20:1→1:1)洗脱得到化合物3(100.8 mg)和4(35.7 mg)。

取广佛手乙醇浓缩浸膏及石油醚萃取浸膏各约0.5 g,干燥后精密称重,作为一氧化氮生成抑制活性筛选实验样品。

1.2.2 色谱质谱条件

毛细管柱 DB-1701(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);进样口:280 °C;进样量:1 μL,不分流;载气:氦气;柱流量:1.2 mL/min;升温程序:初始温度50 °C,保持3 min,10 °C/min 升至130 °C,再5 °C/min 升至250 °C,再10 °C/min 升至280 °C,保持15 min。EI 源,电离电压:70 eV;离子源温度:150 °C;四级杆温度:230 °C;扫描范围:40~450 amu;质谱库:NIST08。

1.2.3 样品定性、定量分析方法

对得到的总离子流图中各峰进行质谱扫描,得到相应各峰质谱图,与 NIST08 数据库标准物质质谱图进行对比分析,确认广佛手低极性成分,用峰面积归一化法计算出相对百分含量。

1.2.4 NO 生成抑制率活性评价

一氧化氮(NO)具有广泛而重要的生物学调控功能,在炎症、肿瘤及心血管系统等均有重要作用。当免疫细胞遭受微生物内毒素、炎症介质等刺激时,会生成大量的诱导型一氧化氮合成酶(induced NO synthase, iNOS),产生 NO 进行免疫应答,因此抑制 NO 生成是化合物抗炎活性的直接指标。将小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 用 LPS 脂多糖诱导一氧化

氮合成酶的生成,同时加入待测药物处理,吸取培养基通过 Griess 法在 570 nm 波长测吸光值来检测亚硝酸盐(NO^{2-})。

将 RAW 264.7 细胞接种至 96 孔板,用 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 进行诱导刺激,同时加入待测药物(终浓度 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$)处理,设置不含药物组和 L-NMMA 阳性药物组作对照。细胞过夜培养后取培养基检测 NO 生成,在 570 nm 处测定吸光值。在剩余培养基中加

入 MTS 进行细胞存活率检测,排除化合物对细胞的毒性影响。按如下公式计算 NO 生成抑制率: NO 生成抑制率 = (非药物处理组 $\text{OD}_{570 \text{ nm}}$ - 样品组 $\text{OD}_{570 \text{ nm}}$) / 非药物处理组 $\text{OD}_{570 \text{ nm}} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 GC-MS 结果

广佛手石油醚萃取物中含量较大且匹配度 85% 以上的低极性成分的相对百分含量见表 1。

表 1 广佛手石油醚萃取物中各成分的相对含量

Table 1 Relative content of component in the petroleum ether extract from the fruit of *C. medica*

序号 No.	t_{R} (min)	化合物 Compound	相对含量 Relative content (%)	匹配度 Matching degree
1	5.447 0	壬烷 Nonane	1.595 3	93
2	7.367 6	十烷 Decane	0.528 8	95
3	7.707 6	β -月桂烯 β -Myrcene	0.403 5	91
4	8.378 5	D-柠檬烯 D-Limonene	2.110 0	95
5	8.635 8	1-甲基-2-(1-甲基乙基)-苯 Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	0.275 4	97
6	8.828 8	(Z)-1,3,6-辛三烯,3,7-二甲基 (Z)-3, 7-Dimethyl-1, 3, 6-octatriene	0.217 2	96
7	8.957 4	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯 1, 4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	2.1051	94
8	10.179 7	(E)-6-十二碳烯 6-Dodecene, (E)-	0.181 8	90
9	10.427 8	环十二烷 Cyclododecane	0.215 4	87
10	10.832 1	(E)-5-十二碳烯 5-Dodecene, (E)-	5.614 2	97
11	10.951 6	(Z)-2-十二碳烯 2-Dodecene, (Z)-	1.339 2	98
12	11.107 8	(Z)-2-十二碳烯 2-Dodecene, (Z)-	0.688 6	98
13	11.227 3	1-甲基-2-吡咯烷酮 2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	0.4248	90
14	11.787 9	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	0.506 8	97
15	12.357 6	α, α -4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇 3-Cyclohexene-1-methanol, α, α -4-trimethyl-	2.062 6	90
16	13.056 0	(Z)-2,6-辛烷-1-醇,3,7-二甲基 2, 6-Octadien-1-ol, 3, 7-dimethyl-, (Z)-	1.988 4	96
17	13.543 1	(E)-2,6-辛烷-1-醇,3,7-二甲基 2, 6-Octadien-1-ol, 3, 7-dimethyl-, (E)-	1.985 4	96
18	14.452 9	八氢-7-甲基-3-亚甲基-4-(1-甲基乙基)-, [3aS-(3 α ,3 β ,4 β ,7 α ,7 α S*)]-1H 环戊烷[1,3]环丙烷[1,2]苯 1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropano[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3 α , 3 β , 4 β , 7 α , 7 α S*)]-	0.178 2	91
19	14.756 1	(Z)-2,6-辛烷-1-醇,3,7-二甲基-, 乙酸盐 2, 6-Octadien-1-ol, 3, 7-dimethyl-, acetate, (Z)-	0.650 3	91
20	15.013 4	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-双环[4.4.0]癸-1-烯 Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-	0.867 5	96
21	15.224 8	2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)二环[3.1.1]庚-2-烯 Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2, 6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-	2.054 9	97
22	15.307 5	1a,2,3,5,6,7,7a,7b-八氢-1,1,7,7a-四甲基-, [1aR-(1 α ,7 α ,7 α ,7 β)]-1H 环丙基[a]萘 1H-Cyclopropano[a]naphthalene, 1a, 2, 3, 5, 6, 7, 7a, 7b-octahydro-1, 1, 7, 7a-tetramethyl-, [1aR-(1 α , 7 α , 7 α , 7 β)]-	1.644 3	91
23	15.583 2	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-双环[4.4.0]癸-1-烯 Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-	0.2711	91
24	15.629 1	(E)-7,11-二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二碳三烯 1, 6, 10-Dodecatriene, 7, 11-dimethyl-3-methylene-, (E)-	0.255 9	95

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	t_R (min)	化合物 Compound	相对含量 Relative content (%)	匹配度 Matching degree
25	15.831 3	8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-(1 α ,4 $\alpha\beta$,8 $\alpha\alpha$)-萘 8a-Octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1. α , 4 α . β , 8 α . α)-Naphthalene	0.270 5	91
26	15.960 0	Z, Z, Z-1,4,7,-环十一碳三烯-1,5,9,9-四甲基 1, 4, 7, -Cycloundecatriene, 1, 5, 9, 9-tetramethyl-, Z, Z, Z-	0.240 3	98
27	16.107 0	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-(1 α ,4 $\alpha\alpha$,8 $\alpha\alpha$)-萘 Naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1 α , 4 α , 8 α .)-	0.181 1	93
28	16.281 6	(Z)-1,6,10-十二碳三烯,7,11-二甲基-3-亚甲基 1, 6, 10-Dodecatriene, 7, 11-dimethyl-3-methylene-, (Z)-	0.3492	87
29	16.401 1	5-(羟甲基)-2-呋喃甲醛 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	0.346 4	94
30	16.575 7	[S-(E,E)]-1,6-环十二烯,1-甲基-5-亚甲基-8-(1-甲基乙基)1-Methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [S-(E,E)]-1, 6-cyclododecadiene	1.970 6	98
31	16.768 7	(S)-环己烯,1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基) Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-	4.253 0	97
32	17.026 0	(1S-顺式)-萘,1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)Naphthalene, 1, 2, 3, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	0.507 8	96
33	19.810 5	(-)-对苯二酚 (-)-Spathulenol	0.621 2	93
34	19.920 8	氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	0.237 3	99
35	20.591 6	十二烷酸 Dodecanoic acid	0.625 8	99
36	21.574 9	α -没药醇 α -Bisabolol	0.428 4	95
37	24.322 6	十四烷酸 Tetradecanoic acid	0.364 3	90
38	24.561 6	十六烷酸 Tetradecanoic acid	1.905 5	99
39	25.388 6	十六烷酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	0.899 1	99
40	26.344 3	十五烷酸 Pentadecanoic acid	1.491 6	99
41	26.574 1	十六烷酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	0.501 5	99
42	28.880 7	(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸甲酯 (Z,Z)-9, 12-Octadecadienoic acid methyl ester	0.668 1	99
43	29.147 2	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯酸,甲酯 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z, Z, Z)-	0.343 3	99
44	29.487 2	植物醇 Phytol	0.748 6	90
45	29.955 9	N-(对甲氧基苯基)马来酰亚胺 N-(p-Methoxyphenyl) maleimide	2.815 5	50
46	30.222 4	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯酸,乙酯 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z, Z, Z)-	0.235 9	99
47	31.251 7	5,7-二甲氧基-2H-1-苯并吡喃-2-酮 2H-1-Benzopyran-2-one, 5, 7-dimethoxy-	5.341 0	98
48	31.610 1	(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸 9, 12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-	4.723 9	99
49	32.924 2	(E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯基酯丁酸 Butanoic acid, 3, 7-dimethyl-2, 6-octadienyl ester, (E)-	0.314 3	86
50	34.651 8	二十烷酸 Eicosanoic acid	0.243 6	99
51	35.828 1	(Z)-2,6-辛烷-1-醇,3,7-丙酸二甲酯 2, 6-Octadien-1-ol, 3, 7-dimethyl-, propanoate, (Z)-	0.965 3	96
52	36.554 1	三十碳烷 Triacontane	0.203 1	96
53	37.234 2	二十二烷酸 Docosanoic acid	0.177 4	97
54	38.199 1	(E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯基酯丁酸 Butanoic acid, 3, 7-dimethyl-2, 6-octadienyl ester, (E)-	4.860 0	90
55	38.456 4	(全E)-2,6,10,5,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-四碳杂芳烃 2, 6, 10, 14, 18, 22-Tetracosahexaene, 2, 6, 10, 15, 19, 23-hexamethyl-, (all-E)-	2.154 4	99
56	45.128 1	维生素 E Vitamin E	2.784 2	99
57	48.868 3	豆甾醇 Stigmasterol	2.566 7	99

2.2 结构鉴定

化合物 1 无色针状晶体(乙酸乙酯); mp. 145 ~ 147 °C。ESI-MS: m/z 207 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.87 (1H, d, *J* = 12 Hz, H-4), 6.56 (1H, d, *J* = 2 Hz, H-8), 6.48 (1H, d, *J* = 2 Hz, H-6), 6.16 (1H, d, *J* = 12 Hz, H-3), 3.89、3.85 (各 3H, s, 2 × OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.0 (s, C-2), 111.1 (d, C-3), 139.2 (d, C-4), 156.7 (s, C-5), 95.4 (d, C-6), 157.2 (s, C-7), 93.5 (d, C-8), 160.8 (s, C-9), 103.5 (s, C-10), 56.5 (q, -OCH₃), 56.8 (q, -OCH₃)。以上波谱数据与文献^[12]报道一致,故鉴定该化合物为 5,7-二甲氧基香豆素(柠檬内酯)。

化合物 2 无色晶体(乙酸乙酯); mp. 135 ~ 137 °C。ESI-MS: m/z 207 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.60 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 6.83 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, s, H-8), 6.26 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 3.90、3.93 (各 3H, s, 2 × OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 162.1 (s, C-2), 113.2 (d, C-3), 143.1 (d, C-4), 107.8 (d, C-5), 146.5 (s, C-6), 152.7 (s, C-7), 100.1 (d, C-8), 150.6 (s, C-9), 111.5 (s, C-10), 56.5 (q, 2 个 -OCH₃)。以上波谱数据与文献报道^[13]基本一致,故鉴定该化合物为 6,7-二甲氧基香豆素。

化合物 3 白色颗粒状固体; ESI-MS: m/z 415 [M + H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.38 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-6), 3.57 ~ 3.50 (1H, m, H-3), 1.05 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 0.83 (3H, d, *J* = 2.4 Hz, H-24), 0.80 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-27), 0.67 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 37.6 (C-1), 31.7 (C-2), 72.1 (C-3), 42.3 (C-4), 140.5 (C-5), 122.1 (C-6), 31.3 (C-7), 31.8 (C-8), 51.0 (C-9), 36.4 (C-10), 21.6 (C-11), 39.7 (C-12), 42.6 (C-13), 56.8 (C-14), 24.6 (C-15), 28.3 (C-16), 56.5 (C-17), 12.3 (C-18), 19.7 (C-19), 36.6 (C-20), 19.0 (C-21), 34.3 (C-22), 26.5 (C-23), 46.2 (C-24), 29.5 (C-25), 20.2 (C-26), 19.3 (C-27), 23.5 (C-28), 12.3 (C-29)。以上波谱数据与文献报道^[14]基本一致,故鉴定该化合物为谷甾醇。

化合物 4 白色固体; ESI-MS: m/z 413.4 [M + H]⁺。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.27 (1H, t, *J* = 4.8 Hz, H-6), 5.21 (1H, m, H-22), 5.05 (1H, m,

H-23), 3.47 (1H, m, H-3), 1.15、1.07、0.94、0.85、0.82、0.67 (各 3H, s, H-18, 19, 21, 26, 27, 29); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 37.2 (t, C-1), 31.8 (t, C-2), 71.5 (d, C-3), 42.6 (t, C-4), 140.3 (s, C-5), 121.4 (d, C-6), 31.9 (t, C-7), 31.4 (d, C-8), 50.1 (d, C-9), 36.7 (s, C-10), 21.4 (t, C-11), 39.6 (t, C-12), 42.4 (s, C-13), 56.3 (d, C-14), 24.6 (t, C-15), 28.5 (t, C-16), 56.4 (d, C-17), 12.1 (q, C-18), 19.7 (q, C-19), 40.2 (d, C-20), 21.3 (q, C-21), 138.2 (d, C-22), 129.5 (d, C-23), 51.2 (d, C-24), 31.9 (d, C-25), 19.1 (q, C-26), 21.5 (q, C-27), 26.2 (t, C-28), 12.3 (q, C-29)。以上波谱数据与文献^[15]报道一致,故鉴定该化合物为豆甾醇。

2.3 广佛手醇提物及石油醚萃取物的一氧化氮(NO)生成抑制活性筛选

本次实验对石油醚萃取、乙醇总提物两个样品的一氧化氮(NO)生成抑制活性进行评价,其在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下的抑制率详见表 2。广佛手石油醚萃取的 NO 抑制活性大于乙醇总提物抑制活性,但均低于对照品 L-NMMA,有一定的抗炎活性。

表 2 样品的 NO 生成抑制率

Table 2 Inhibition rate of sample on NO generation

样品 Sample	浓度 Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	NO 生成抑制率 NO generation inhibition rate (%)
L-NMMA	12.42	56.98 ± 0.90
石油醚萃取物 Petroleum ether extract	50	23.40 ± 2.50
乙醇总提物 Total ethanol extract	50	7.89 ± 1.28

3 结论

广佛手石油醚萃取部分的低极性化学成分共检出匹配度大于 85% 的化合物共 57 种,相对含量占 72.50%。含量较大的分别为 (*E*)-5-十二碳烯(5.61%)、5,7-二甲氧基-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮(5.34%)、(*Z,Z*)-9,12-十八碳二烯酸(4.72%)、(*S*)-1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)-环己烯(4.25%)、*N*-(对甲氧基苯基)-马来酰亚胺(2.82%)、维生素 E(2.78%)、豆甾醇(2.57%)等。以上广佛手低极性化学成分的分析结果,并未含有文献记载的常见成分,如单萜及其衍生物 *D*-柠檬烯、 γ -松油烯、邻-伞花烃;倍半萜及其衍生物,佛手柑油烯、 β -石竹烯、 β -甜没药烯等成分。据文献记载,不同收获期的广佛手精油中萜烯类化合物的含

量最高,为 79.48% ~ 97.21%,按含量大小排序为 *D*-柠檬烯(35.29% ~ 51.42%)、 γ -松油烯(25.91% ~ 34.31%)、 α -蒎烯(1.55% ~ 3.20%)、 β -蒎烯(1.22% ~ 2.91%)^[16,17]。佛手精油中分析出 38 种化合物,其中 *L*-柠檬烯含量为 60.91%、 γ -松油烯含量为 27.08%,其余含量大于 1% 的化合物分别为 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -月桂烯和环己烯^[18]。

由于产地和实验方法的不同,我们的实验结果与以上文献记载有明显的差异。本文实验结果显示,广佛手虽含有 *D*-柠檬烯和 β -月桂烯,但含量较少,分别为 0.40% 和 2.11%。并且不含文献中记载的挥发油中含量较大的一些化合物,如 γ -松油烯、邻-伞花烃、佛手柑油烯、 β -石竹烯、 β -甜没药烯、蒎烯、月桂烯等化合物。在浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,石油醚萃取、乙醇总提物的 NO 生成抑制率分别为 (23.40 \pm 2.50)%、(7.89 \pm 1.28)%,证实了其具有一定的抗炎活性。本文实验数据有力地补充了广佛手的化学成分研究的相关内容。

广佛手作为一种广东资源丰富的传统中药,目前对其石油醚萃取部分的低极性成分研究较少,本文对其进行化学成分研究和低极性成分 GC-MS 分析,以及 NO 生成抑制活性研究,为充分发挥其潜在价值提供参考。

参考文献

- 1 Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora Reipublicae Popularis Sinicae(中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1997, 43:184-185.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I(中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020, 185.
- 3 Cao Y, Hao EW, Du ZC, et al. Ingredients, pharmacological activities and predictive analysis of Q-markers of Guangfoshou(*Citri Sarcodactylis Fructus*) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2022, 40:135-146.
- 4 Li CY, Yuan Z, She CJ, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological actions of *Citri Sarcodactylis Fructus* [J]. Food Drug(食品与药品), 2022, 24:187-192.
- 5 Zhao YY, Hu HW, Pent T, et al. Research progress on the chemical components, pharmacological effects, and development applications of *Citrus medica* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2018, 29:2734-2736.
- 6 Zhang SQ, Yang HY, Zeng J, et al. Research progress on *Cit-*

- rus medica* [J]. Chin J Tradit Chin Med(中华中医药杂志), 2018, 33:3510-3514.
- 7 Chen HM, Xu JH, Zhang SZ, et al. Research progress in *Citrus medica* essential oil [J]. Farm Prod Process(农产品加工), 2017, 14:69-70.
- 8 Shi JH, Qiu Q, Liu XF, et al. Prediction and analysis of chemical components, pharmacological effects, and quality markers(Q-Markers) of *Citrus medica* [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2023, 41:17-28.
- 9 Ou GH, Rang YF, Huang ZQ. Research progress on the chemical composition and biological activity of *Citrus medica* extract [J]. Food Sci Technol(食品科技), 2021, 46:169-174.
- 10 Ou ME, Tang TX, Wu WB. The effect of *Citrus medica* on the regulation of inflammatory cytokines in human lung epithelial cells induced by lipopolysaccharide [J]. Acta Chin Med Pharm(中医学报), 2018, 46:38-41.
- 11 Qiu JF, Wang X, Zhang HN, et al. Preventive effects of *Citrus medica* and sweet orange juice and volatile oil on oleic acid induced acne in rabbit ears [J]. J Chin Agric Univ(中国农业大学学报), 2020, 25:82-89.
- 12 Gao YB, Xu TH, Diao YM. A Study on the chemical constituents of *Citrus medica* (I) [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理), 2002, 13:315-316.
- 13 Cui HH, Gao YB, Liang SL. A Study on the chemical constituents of *Citrus medica* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 38:1304-1306.
- 14 Jia XG, Huang YY, Zhang WY, et al. Study on the chemical constituents and antitumor activity of *Maytenus confertiflora* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2024, 47:96-101.
- 15 Huang YP, Song JL, Wu JP, et al. Isolation and identification of chemical constituents of *Mesona chinensis* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24:77-81.
- 16 Tang N, Liu Jing Y, Chen XA, et al. Analysis of volatile components in essential oil of fingered citrons *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle harvested in Guangdong province at different times by GC-MS and GC-IMS [J]. Food Sci(食品科学), 2021, 42:193-202.
- 17 Wang CL, Luo Y, Duan LX, et al. Comparative analysis of essential oil components of bergamot from different origins by GC-MS [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2021, 42:274-281.
- 18 Xing C, Qin CQ, Li XQ, et al. Chemical composition and biological activities of essential oil isolated by HSSPME and UAHD from fruits of bergamot [J]. LWT-Food Sci Technol, 2019, 104:38-44.