

酱香型酒糟中难挥发性化学成分的研究

林琳¹, 齐晓冬², 李永素¹, 杨玉波¹, 杨鸣华^{2*}, 陈毅¹, 孔令义², 王莉^{3**}

(¹贵州茅台酒股份有限公司, 遵义 564501; ²中国药科大学天然活性组分与药效重点实验室, 南京 211198;
³中国贵州茅台酒厂(集团)有限责任公司, 遵义 564501)

摘要 为了研究酱香型酒糟中难挥发性化学成分, 实验以75%乙醇提取茅台酒糟, 利用硅胶、ODS、Sephadex LH-20等柱色谱及制备型HPLC对酒糟石油醚、乙酸乙酯萃取部位进行分离纯化, 得到21个化合物。化合物经ESI-MS和NMR波谱分析技术鉴定, 分别鉴定为十五烷酸(**1**)、十六烷酸(**2**)、反式-2-癸烯酸(**3**)、十八酸正壬酯(**4**)、十八酸乙酯(**5**)、亚油酸乙酯(**6**)、十二烷酸(**7**)、1,3-二辛酰基-2-亚油酰基甘油(**8**)、环(苯丙氨酸-脯氨酸)(**9**)、环(脯氨酸-亮氨酸)(**10**)、3,6-双(2-甲基丙基)-2,5-哌嗪二酮(**11**)、4-羟基苯乙醇(**12**)、2,4-二羟基苯甲酸(**13**)、豆甾醇(**14**)、2-呋喃甲酸(**15**)、缬氨酸(**16**)、L-丙氨酸-L-脯氨酸(**17**)、二氢槲皮素(**18**)、5,7,3',4'-四羟基二氢黄酮(**19**)、槲皮素(**20**)、柚皮素(**21**)。化合物**1~21**为首次从酒糟中分离得到。

关键词 酱香型酒糟; 石油醚部位; 乙酸乙酯部位; 分离纯化; 结构鉴定

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2023)04-0461-07

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023040402

引用本文 林琳, 齐晓冬, 李永素, 等. 酱香型酒糟中难挥发性化学成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(4): 461–467.

Cite this article as: LIN Lin, QI Xiaodong, LI Yongsu, et al. Identification of involatile chemical components from *Moutai*-flavored distiller's grains[J]. *J China Pharm Univ*, 2023, 54(4): 461–467.

Identification of involatile chemical components from *Moutai*-flavored distiller's grains

LIN Lin¹, QI Xiaodong², LI Yongsu¹, YANG Yubo¹, YANG Minghua^{2*}, CHEN Yi¹, KONG Lingyi², WANG Li^{3**}

¹Kweichow Moutai Co., Ltd., Zunyi 564501; ²Laboratory of Natural Active Components and Pharmacodynamics Research, Pharmaceutical University, Nanjing 211198; ³Kweichow Moutai Group, Zunyi 564501, China

Abstract In order to study the involatile chemical components in *Moutai*-flavored distiller's grains, the *Moutai*-flavored distiller's grains were extracted with 75% ethanol, followed by extraction with petroleum ether, ethyl acetate, and n-butanol. Silica gel, ODS, sephadex LH-20, and preparative HPLC were used to separate and identify the petroleum ether and ethyl acetate layers. ESI-MS and NMR were used to identify the compounds, which were respectively identified as pentadecanoic acid (**1**), palmitic acid (**2**), *trans*-2-decenoic acid (**3**), *n*-nonyl octadecanoate (**4**), ethyl octadecanoate (**5**), ethyl linoleate (**6**), luric acid (**7**), 1, 3-dicaprylyl-2-linoleylglycerin (**8**), cyclic (phenylalanine-proline) (**9**), cyclo-(proline-leucine) (**10**), 3, 6-bis-(2-methylpropyl)-2,5-dione piperazine (**11**), 4-hydroxyphenethyl alcohol (**12**), 2,4-dihydroxybenzoic acid (**13**), stigmasterol (**14**), 2-furancarboxylic acid (**15**), valine (**16**), L-alanine acyl-L-proline (**17**), dihydroquercetin (**18**), 5, 7, 3', 4'-tetrahydroxyflavonoids (**19**), quercetin (**20**), and naringenin (**21**). Compounds **1~21** were isolated from distiller's grains for the first time.

Key words *Moutai*-flavored distiller's grains; petroleum ether layer; ethyl acetate layer; separation and purification; structural identification

我国是世界最大的白酒产销国,但是对酒糟的开发利用仍主要以饲料行业的原料或基料为主,产品附加值低。对酒糟缺乏研究是限制酒糟开发利用的一个重要因素。我国对酒糟成分的研究多集中在影响白酒风味的挥发性成分^[1],而对于酒糟中难挥发性成分的研究有限。值得注意的是,酒糟自古就作为一味中药被中医应用,具有悠久的药用历史。《本草纲目》记载:糯、秫、黍、麦,皆可蒸酿酒醋,熬煎饴,化成糟粕^[2]。其中提到的糟粕就是酒糟。酒糟味咸、温,无毒,主温中冷气,消食杀腥、去草菜毒、润皮肤、调脏腑,能活血行经止痛,用于暑湿瘀血,浸洗冻疮,敷蛇、蜂叮毒,可治伤折、恶血不散疼痛^[3-4]。另一方面,因为酿酒过程中微生物群发酵可能会产生各种各样复杂的生物化学变化,使得酒糟具有潜在的化学成分多样性和丰富性,值得深入研究。

为探索酒糟中潜在的活性成分,便于对其进行后续研究和开发利用,对茅台酒糟的难挥发性化学成分进行了研究。实验共分离鉴定了21个化合物,分别为十五烷酸(**1**)、十六烷酸(**2**)、反式-2-癸烯酸(**3**)、十八酸正壬酯(**4**)、十八酸乙酯(**5**)、亚油酸乙酯(**6**)、十二烷酸(**7**)、1,3-二辛酰基-2-亚油甘油(**8**)、环(L-苯丙氨酸-L-脯氨酸)(**9**)、环(脯氨酸-亮氨酸)(**10**)、3,6-双(2-甲基丙基)-2,5-哌嗪二酮(**11**)、4-羟基苯乙醇(**12**)、2,4-二羟基苯甲酸(**13**)、豆甾醇(**14**)、2-呋喃甲酸(**15**)、缬氨酸(**16**)、L-丙氨酰-L-脯氨酸(**17**)、二氢槲皮素(**18**)、5,7,3',4'-四羟基二氢黄酮(**19**)、槲皮素(**20**)、柚皮素(**21**)。**1~21**为首次从酒糟中分离得到。

1 材 料

分析型高效液相色谱仪、Zorbax SB-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)色谱柱、Agilent 1100 Series LC/MSD Trap 质谱仪(美国 Agilent 公司);制备型高效液相色谱仪、Shim-Pack RP-C₁₈型色谱柱(4.6 mm × 250 mm)(日本 Shimadzu 公司);核磁共振波谱为 600 MHz 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);旋转蒸发仪(日本 Eyela 公司);ODS、Sephadex LH-20 填料(美国 Pharmacia 公司);薄层色谱硅胶板 GF254(青岛海洋化工厂);实验其他试剂均为市售分析纯(江苏汉邦科技有限公司)和色谱纯(美国天地化学试剂有限公司)。

酒糟样品来源于贵州茅台镇酱香型酒七轮次酒糟 5 kg。

2 提取与分离

茅台酒糟 5 kg, 用 75% 乙醇超声提取 3 次, 合并提取液后, 减压浓缩得到总浸膏。将其分散于水中, 再依次分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次后减压浓缩, 分别得石油醚部位、乙酸乙酯部位和正丁醇部位浸膏。

茅台酒糟石油醚部位(46.6 g)使用硅胶柱色谱分离, 用石油醚/乙酸乙酯(100:1 ~ 70:1)梯度洗脱后, TLC 跟踪检测, 得到 Fr. 1 ~ Fr. 3 共 3 个组分。组分 Fr. 1 进行 ODS 分离, 合并得到 3 个组分, 针对组分 Fr. 1-1 进行 Pre-HPLC, 采用 85% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **1**(2.3 mg, *t*_R = 31.91 min) 和 **2**(3.0 mg, *t*_R = 10.21 min), 对组分 Fr. 1-2 进行 Pre-HPLC, 采用 81% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **3**(2.0 mg, *t*_R = 15.09 min), 组分 Fr. 2 进行 ODS 分离, 合并得到 2 个组分, 针对 Fr. 2-1 组分进行 Pre-HPLC, 采用 80% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **4**(4.4 mg, *t*_R = 32.53 min) 和 **5**(3.5 mg, *t*_R = 28.89 min); 组分 Fr. 3 进行 ODS 分离, 合并得到 3 个组分, 对 Fr. 3-1 组分进行 Pre-HPLC, 采用 76% 甲醇等度洗脱, 检测波长 254 nm, 得到化合物 **6**(2.6 mg, *t*_R = 29.19 min) 和 **7**(3.1 mg, *t*_R = 18.31 min), 对 Fr. 3-2 组分进行 ODS 分离, 采用 72% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **8**(5.2 mg, *t*_R = 25.46 min)。

茅台酒糟乙酸乙酯部位, 硅胶柱色谱分离, 用石油醚/乙酸乙酯梯度洗脱后, TLC 跟踪检测, 得到 Fr. 4 ~ Fr. 9 共 6 个组分。Fr. 4 组分进行 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 以甲醇-二氯甲烷(1:1)为洗脱剂分离得到 Fr. 4-1、Fr. 4-2、Fr. 4-3 组分, 对 Fr. 4-2 组分进行 Pre-HPLC, 采用 50% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **9**(8.2 mg, *t*_R = 20.21 min)、化合物 **10**(4.5 mg, *t*_R = 22.35 min) 和化合物 **11**(2.0 mg, *t*_R = 25.27 min), 对 Fr. 4-3 组分 Pre-HPLC, 采用 52% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **12**(4.5 mg, *t*_R = 26.52 min); 组分 Fr. 5 进行 ODS 分离, 合并得到 2 个组分, 针对组分 Fr. 5-2 进行 Pre-HPLC, 采用 60% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **13**(6.2 mg, *t*_R = 11.51 min)

和化合物 **14**(3.9 mg, $t_R = 25.63$ min); 组分 Fr. 6 进行 ODS 分离, 合并得到 2 个组分, 针对 Fr. 6-2 组分进行 Pre-HPLC, 采用 65% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **15**(4.7 mg, $t_R = 23.56$ min) 和化合物 **16**(3.3 mg, $t_R = 28.66$ min); 组分 Fr. 7 进行 ODS 分离, 合并得到两个组分, 对组分 Fr. 7-1 进行 Pre-HPLC, 采用 62% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **17**(3.6 mg, $t_R = 23.88$ min), 对组分 Fr. 7-2 进行 Pre-HPLC, 采用 50% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **18**(2.8 mg, $t_R = 18.63$ min); 组分 Fr. 8 进行 ODS 分离, 合并得到两个组分, 对组分 Fr. 8-2 进行 Pre-HPLC, 采用 50% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **19**(4.7 mg, $t_R = 14.71$ min) 化合物 **20**(3.7 mg, $t_R = 23.71$ min), 组分 Fr. 9 进行 ODS 分离, 合并得到两个组分, 对组分 Fr. 9-2 进行 Pre-HPLC, 采用 45% 甲醇等度洗脱, 检测波长 230 nm, 得到化合物 **21**(8.6 mg, $t_R = 28.12$ min)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色粉末; ESI-MS m/z 242.2 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{15}H_{30}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 11.87(1H, s, COOH), 1.28(26H, m, H-2~H-14), 0.88(3H, t, $J = 8.1$ Hz, H-15); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ: 179.1(C=O), 34.3(C-2), 32.8(C-13), 30.35~28.39(C-4~C-12), 24.89(C-3), 22.91(C-14), 14.33(C-1)。化合物核磁数据与参考文献[4]比对一致, 确定化合物**1**为十五烷酸。

化合物 2 白色固体; ESI-MS: m/z 256.7 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{16}H_{32}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 2.35(2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2), 1.64(2H, m, H-3), 1.30(24H, m, H-4~H-15), 0.88(3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-16); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ: 179.6(C-1), 34.9(C-2), 31.9(C-14), 31.6(C-4), 29.3(C-5), 29.1(C-6), 29.0(C-7), 28.9(C-8), 28.8(C-9), 28.6(C-10), 28.5(C-11), 28.4(C-12), 28.3(C-13), 24.7(C-3), 22.1(C-14), 14.3(C-16)。化合物核磁数据与参考文献[5]比对一致, 确定化合物**2**为十六烷酸。

化合物 3 无色油状物; ESI-MS: m/z 171.1 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{10}H_{18}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 7.09(1H, m, H-3), 5.82(1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2), 2.23(2H, m, H-4), 1.47(2H, m, H-5), 1.19-

1.40(8H, m, H-6~H-9), 0.88(3H, t, $J = 8.0$ Hz, H-10); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ: 170.5(C-1), 150.9(C-3), 122.8(C-2), 33.4(C-4), 31.3(C-5), 29.7(C-6), 29.6(C-7), 29.1(C-8), 22.7(C-9), 14.4(C-10)。化合物核磁数据与参考文献[6]比对一致, 确定化合物**3**为反式-2-癸烯酸。

化合物 4 无色油状物; ESI-MS: m/z 410.7 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{27}H_{54}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.13(2H, t, $J = 8.4$ Hz, H-1'), 2.38(2H, t, $J = 8.3$ Hz, H-2), 1.28(44H, m, H3~H17, H2'~H8'), 1.02(3H, s, H-9'), 0.91(3H, s, H-18'); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ: 173.6(C-1), 66.1(C-1'), 29.8(C-2~C-17), 29.6(C2'~C-8'), 14.3(C-18), 14.1(C-9')。化合物核磁数据与参考文献[7]比对一致, 确定化合物**4**为十八酸正壬酯。

化合物 5 无色油状物; ESI-MS: m/z 313.4 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{20}H_{40}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 4.11(2H, m, OCH₂CH₃), 2.28(2H, m, H-2), 1.62(2H, t, H-15), 1.31(3H, t, $J = 7.0$ Hz, -OCH₂CH₃), 1.24~1.33(28H, m, H-3~H-14), 0.88(3H, t, H-16); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ: 173.9(C-1), 62.3(C-1'), 25.1~33.9(C-2~C-17), 14.3(C-18), 14.1(C-2')。化合物核磁数据与参考文献[8]比对一致, 确定化合物**5**为十八酸乙酯。

化合物 6 无色油状物; ESI-MS: m/z 308.4 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{20}H_{36}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 5.48(2H, m, H-9), 5.29(2H, m, H-10, H-12, H-13), 3.57(2H, m, $J = 7.4$ Hz, H-11), 2.33(2H, t, H-2), 2.07(4H, q, $J = 7.1$ Hz, H-8, H-14), 1.25~1.29(14H, q, $J = 7.1$ Hz, H-3~H7, H-15~H-17), 0.87(3H, m, H-18), 4.13(2H, q, $J = 7.0$ Hz, -OCH₂CH₃), 1.29(3H, t, $J = 7.0$ Hz, -OCH₂CH₃); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ: 174.2(C-1), 130.3(C-9), 130.1(C-13), 127.8(C-10), 127.7(C-12), 62.3(C-1'), 25.1~33.2(C-2~C-8), 25.5(C-11), 27.1(C-14), 29.1(C-15), 32.2(C-16), 22.5(C-17), 14.1(C-18), 14.0(C-2')。化合物核磁数据与参考文献[9]比对一致, 确定化合物**6**为亚油酸乙酯。

化合物 7 白色固体; ESI-MS: m/z 200.1 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{12}H_{24}O_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ: 2.52(2H, t, H-2), 1.80(2H, m, H-3), 1.26(16H, s, H-4~H-11), 0.87(3H, t, H-12); ¹³C NMR(CDCl₃,

125 MHz) δ : 178.4(C-1), 33.4(C-2), 32.8(C-3), 31.3(C-4), 28.1(C-5), 27.4(C-6), 26.6(C-7), 25.9(C-8), 24.8(C-9), 23.6(C-10), 22.5(C-11), 14.5(C-12)。化合物核磁数据与参考文献[10]比对一致,确定化合物**7**为十二烷酸。

化合物8**** 无色油状物; ESI-MS: m/z 607.3 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₉H₃₅O₁₄。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.88(1H, m, H-14), 4.75(2H, m, H-29), 2.32(6H, m, H-15, H-27, H-31), 1.66(2H, m, H-32), 1.51(4H, m, H-12, H-28), 1.33(6H, m, H-16, H-26, H-33), 1.26(20H, m, H-10, H-11, H-16, H-17, H-22, H-25, H-33 ~ H-36), 0.88(6H, t, J = 8.0 Hz, H-24, H-37); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 173.9(C-1'), 173.7(C-1''), 173.1(C-1), 130.5(C-9), 130.4(C-13), 127.8(C-10), 127.7(C-12), 25.5 ~ 33.1(C-2' ~ C-7'), 25.3 ~ 22.8(C-2'' ~ C-7''), 25.2 ~ 30.1(C-2 ~ C-8), 22.8 ~ 31.9(C-14 ~ C-17)。化合物核磁数据与参考文献[11]比对一致,确定化合物**8**为1,3-二辛酰基-2-亚油甘油。

化合物9**** 白色固体; ESI-MS: m/z 489.1 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₈H₃₂N₄O₄。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 7.97(1H, m, -NH), 7.24(4H, m, H-5, H-6), 7.23(1H, m, H-7), 4.32(1H, t, J = 5.3 Hz, H-2), 4.32(1H, dd, J = 8.8, 7.1 Hz, H-2'), 3.41(1H, m, H-5'), 3.28(1H, m, H-5''), 3.12(1H, dd, J = 14.1, 5.0 Hz, H-3a), 3.04(1H, dd, J = 14.1, 5.0 Hz, H-3b), 2.01(1H, m, H-3'), 1.73(2H, m, H-4'), 1.43(1H, m, H-3''); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 169.5(C-1'), 165.5(C-1), 137.7(C-4), 130.2(C-5), 128.4(C-6), 126.8(C-7), 58.9(C-2''), 56.2(C-2), 45.0(C-5''), 35.8(C-3), 28.2(C-3''), 22.4(C-4')。化合物核磁数据与参考文献[12]比对一致,确定化合物**9**为环(L-苯丙氨酸-L-脯氨酸)。

化合物10**** 白色粉末; ESI-MS: m/z 211.3 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₈N₂O₂。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.14(1H, m, -NH), 4.08(1H, t, J = 8.1 Hz, H-2), 3.94(1H, dd, J = 8.8 Hz, 3.1 Hz, H-2'), 3.48(2H, m, H-5), 2.31(1H, m, H-3a), 2.02(1H, m, H-3b), 2.04(1H, m, H-3'a), 2.01(1H, m, H-4a), 1.88(1H, m, H-4b), 1.71(1H, m, H-4'), 1.47(1H, dd, J = 9.1 Hz, 4.8 Hz, H-3'b), 0.92(3H, d, J = 6.6 Hz, H-5'), 0.89(3H, d, J = 7.0 Hz, H-6'); ¹³C NMR(CDCl₃,

125 MHz) δ : 171.2(C-1), 166.4(C-1'), 59.3(C-2), 53.7(C-2''), 45.8(C-5), 38.9(C-3''), 28.6(C-3), 24.1(C-4''), 23.6(C-5''), 22.3(C-4), 21.8(C-6')。化合物核磁数据与参考文献[13]比对一致,确定化合物**10**为环(脯氨酸-亮氨酸)。

化合物11**** 白色粉末; ESI-MS: m/z 227.1 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₂H₂₂O₂N₂。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 8.04(1H, m, -NH), 7.17(1H, m, -NH), 4.17(1H, d, H-2), 3.67(1H, d, H-2''), 3.10(1H, t, H-3), 1.78(1H, m, H-3''), 1.56(1H, m, H-4), 1.39(1H, m, H-4''), 0.91(3H, s, H-5), 0.93(3H, s, H-5''), 0.86(3H, s, H-6), 0.90(3H, s, H-6''); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 173.3(C-1'), 173.1(C-1), 58.7(C-2), 58.6(C-2''), 41.2(C-3), 40.9(C-3''), 24.4(C-4), 24.3(C-4''), 22.8(C-5''), 22.7(C-6''), 22.6(C-6), 22.5(C-5)。化合物核磁数据与参考文献[14]比对一致,确定化合物**11**为3,6-双(2-甲基丙基)-2,5-哌嗪二酮。

化合物12**** 白色粉末; ESI-MS: m/z 139.1 [M+H]⁺, 分子式为 C₈H₁₀O₂。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 9.06(1H, s, 4-OH), 6.98(2H, d, J = 7.1 Hz, H-3, H-5), 6.68(2H, d, J = 7.1 Hz, H-2, H-6), 4.58(1H, s, 2'-OH), 3.63(2H, t, J = 8.2 Hz, H-2''), 2.87(2H, t, J = 8.2 Hz, H-1'); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 154.7(C-4), 130.9(C-1), 130.6(C-2), 130.6(C-6), 115.9(C-3), 115.8(C-5), 64.1(C-2''), 38.6(C-1')。化合物核磁数据与参考文献[15]比对一致,确定化合物**12**为4-羟基苯乙醇。

化合物13**** 白色粉末; ESI-MS: m/z 155.2 [M+H]⁺, 分子式为 C₇H₆O₄。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 16.47(1H, s, -COOH), 12.04(1H, s, 4-OH), 10.10(1H, s, 2-OH), 6.40(1H, s, H-3), 7.83(1H, d, J = 6.8 Hz, H-6), 6.47(1H, d, J = 6.8 Hz, H-5); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 168.3(C-7), 150.1(C-4), 144.6(C-2), 121.1(C-1), 107.9(C-6), 103.5(C-5), 102.8(C-3)。化合物核磁数据与参考文献[16]比对一致,确定化合物**13**为2,4-二羟基苯甲酸。

化合物14**** 白色针晶; ESI-MS: m/z 413.3 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₉H₄₈O。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.32(1H, s, H-6), 3.50(1H, m, H-3), 1.09(3H, s, H-19), 0.92(3H, s, H-21), 0.85(3H, d, J = 6.5 Hz, H-29), 0.84(3H, d, J = 7.0 Hz, H-26), 0.83(3H, d, J = 7.0 Hz, H-27); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ :

140.8(C-5), 138.3(C-22), 129.3(C-23), 121.7(C-6), 71.8(C-3), 56.9(C-14), 56.0(C-17), 51.2(C-24), 50.1(C-9), 42.3(C-13), 42.1(C-4), 40.5(C-20), 39.7(C-12), 37.3(C-1), 36.5(C-10), 31.9(C-25), 31.7(C-2), 30.9(C-7), 28.9(C-16), 25.4(C-28), 24.4(C-15), 21.2(C-21), 21.0(C-11), 19.8(C-26), 19.4(C-19), 19.0(C-27), 12.3(C-29), 12.0(C-18)。化合物核磁数据与参考文献[17]比对一致, 确定化合物**14**为豆甾醇。

化合物 15 白色针晶; ESI-MS: m/z 112.0 [M+H]⁺, 分子式为 $C_5H_4O_3$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 7.65(1H, s, H-3), 7.35(1H, m, H-5), 6.57(1H, t, J =8.5 Hz, H-4); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 163.4(C-6), 147.8(C-5), 143.7(C-2), 120.1(C-3), 112.3(C-4)。化合物核磁数据与参考文献[18]比对一致, 确定化合物**15**为2-呋喃甲酸。

化合物 16 白色粉末; 白色粉末。ESI-MS: m/z 117.1 [M+H]⁺, 分子式为 $C_5H_{11}O_2N$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 3.59(1H, d, J =7.1 Hz, H-2), 2.26(1H, m, H-3), 1.02(3H, d, J =7.0 Hz, H-4), 0.97(3H, d, J =7.1 Hz, H-5); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 175.5(C-1), 60.3(C-2), 29.0(C-3), 17.9(C-4), 16.6(C-5)。以上波谱数据与文献[19]一致, 确定化合物**16**为缬氨酸。

化合物 17 白色粉末; ESI-MS: m/z 186.3 [M+H]⁺, 分子式为 $C_8H_{14}O_3N_2$ 。¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 8.76(2H, s, -NH₂), 4.33(1H, d, J =11.5 Hz, H-2), 3.67(2H, m, H-7), 3.51(2H, d, J =8.3 Hz, H-5), 2.33(2H, m, H-3), 2.02(2H, d, J =8.1 Hz, H-4), 1.27(3H, s, H-8); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 175.9(C-1), 173.3(C-6), 66.6(C-2), 49.9(C-5), 47.7(C-7), 28.6(C-3), 24.5(C-4), 17.1(C-8)。以上波谱数据与文献[20]一致, 确定化合物**17**为L-丙氨酰-L-脯氨酸。

化合物 18 白色粉末; ESI-MS: m/z 305.3 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_7$ 。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 12.05(1H, s, 5-OH), 10.29(1H, s, 7-OH), 9.48(1H, s, 4'-OH), 9.46(1H, s, 5'-OH), 6.78(1H, d, J =8.1 Hz, H-5'), 6.67(1H, d, J =2.0 Hz, H-2'), 6.65(1H, dd, J =2.1 Hz, 2.4 Hz, H-6'), 6.46(1H, H-3'), 6.06(1H, d, J =2.2 Hz, H-8), 5.95(1H, d, J =2.1 Hz, H-6), 5.51(1H, d, J =11.5 Hz, H-2), 5.44

(1H, d, J =11.5 Hz, H-3); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 196.9(C-3), 166.6(C-1), 164.9(C-7), 163.8(C-6), 146.2(C-5), 145.9(C-4), 129.0(C-10), 120.0(C-15), 116.2(C-14), 114.2(C-13), 100.6(C-9), 95.1(C-12), 94.6(C-11), 87.4(C-2), 71.9(C-8)。化合物核磁数据与参考文献[21]比对一致, 确定化合物**18**为二氢槲皮素。

化合物 19 白色粉末; ESI-MS: m/z 311.2 [M+Na]⁺, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_6$ 。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 12.05(1H, s, 5-OH), 10.29(1H, s, 7-OH), 9.48(1H, s, 4'-OH), 9.46(1H, s, 5'-OH), 6.63(1H, d, J =2.0 Hz, H-2'), 6.58(1H, dd, J =2.1 Hz, 2.4 Hz, H-6'), 6.41(1H, H-3'), 6.12(1H, d, J =2.2 Hz, H-8), 5.91(1H, d, J =2.1 Hz, H-6), 5.51(1H, t, J =7.1 Hz, H-2) 5.35(1H, dd, J =17.0 Hz, 3.0 Hz, H-3b), 3.12(1H, dd, J =17.0 Hz, 3.0 Hz, H-3a); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 179.3(C-3), 166.5(C-6), 163.3(C-4), 161.5(C-13), 159.0(C-8), 158.5(C-1), 135.4(C-2), 132.3(C-11), 123.3(C-15), 122.8(C-10), 116.1(C-12), 105.7(C-9), 104.1(C-14), 100.1(C-5), 94.8(C-7)。化合物核磁数据与参考文献[22]比对一致, 确定鉴定化合物**19**为5,7,3',4'-四羟基二氢黄酮。

化合物 20 淡黄色粉末; ESI-MS: m/z 302.4 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$ 。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 12.05(1H, s, 5-OH), 10.29(1H, s, 7-OH), 10.68(1H, s, 3-OH), 9.48(1H, s, 4'-OH), 9.46(1H, s, 5'-OH), 7.62(1H, d, J =2.2 Hz, H-2'), 7.48(1H, dd, J =8.3 Hz, 2.2 Hz, H-6'), 6.81(1H, d, J =8.2 Hz, H-3'), 6.45(1H, d, J =2.1 Hz, H-8), 6.14(1H, d, J =2.1 Hz, H-6); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) δ : 176.6(C-4), 164.8(C-7), 161.8(C-9), 156.8(C-5), 148.3(C-4'), 147.2(C-2), 145.9(C-3'), 136.5(C-3), 122.5(C-1'), 120.2(C-6'), 116.4(C-5'), 115.3(C-2'), 103.1(C-10), 98.2(C-6), 93.1(C-8)。化合物核磁数据与参考文献[23]比对一致, 确定化合物**20**为槲皮素。

化合物 21 白色针状结晶; ESI-MS: m/z 272.1 [M+H]⁺, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_5$ 。¹H NMR(DMSO-d₆, 500 MHz) δ : 12.83(1H, s, 5-OH), 7.55(2H, d, J =8.0 Hz, H-2', H-6'), 7.22(2H, dd, H-3', H-5'), 6.49(1H, d, J =4.0 Hz, H-8), 6.18(1H, s, H-6), 5.51

(1H, m, $J = 4.0$ Hz, H-2), 5.32(2H, s, H-6, H-8), 3.33(1H, m, $J = 12.0$ Hz, H-3a), 2.90(1H, m, $J = 4.0$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 196.5(C-4), 168.6(C-7), 165.2(C-5), 164.0(C-9), 159.5(C-4'), 129.8(C-1'), 128.9(C-2', C-6'), 116.4(C-3', C-5'), 102.8(C-10), 97.2(C-6), 96.11(C-8), 79.7(C-2), 43.3(C-3)。化合物核磁数据与参考文献[24]比对一致,确定化合物**21**为柚皮素。

4 讨 论

酒糟自古就被中医应用到多种病症中,具有帮助消化、温寒补虚、提神解乏、解渴消暑、活血通经、润肤、杀虫等功效。酿酒过程中微生物群发酵可能会产生各种各样复杂的生物化学变化,使得酒糟具有潜在的化学成分多样性和丰富性。为探索酒糟中潜在的活性成分,便于对其进行后续研究和开发利用,本研究对茅台酒糟的难挥发性化学成分进行了研究。

化合物**1**~**21**均是从酒糟中首次分离、纯化得到的单体化合物,其中由苯丙氨酸和脯氨酸形成的环四肽,脯氨酸与亮氨酸形成的二酮哌嗪类化合物均报道为微生物代谢产物,故推测为发酵过程中产生的。

本研究分离的化合物多数都具有一定的药理作用报道,且部分与古籍记载的酒糟功效相一致。十五烷酸可以抑制白色念珠菌和肺炎克雷伯菌等^[25],环(脯氨酸-亮氨酸)和环(脯氨酸-苯丙氨酸)可以抑制多种细菌生长,如能抑制霍乱弧菌毒力因子的产生^[26],4-羟基苯乙醇对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌有抗菌作用^[27],这说明酒糟可能具有一定抑菌作用。环二肽类化合物还具有免疫调节、心脑血管保护等生物活性^[24],豆甾醇可通过竞争肠道吸收抑制胆固醇和降低血清胆固醇含量的吸收,具有抗氧化、降血糖及甲状腺抑制特性^[28]。这些相关的报道说明酒糟对心血管系统方面的疾病有一定的辅助治疗作用。二氢槲皮素具有较强的抗氧化特性^[23]、调节酶活^[29]等多种生物活性,槲皮素和柚皮素具有抗氧化活性^[30],十六烷酸可促进正确表皮形态的产生,维护表皮屏障^[31],亚油酸乙酯可以抑制小鼠B16F10细胞黑色素生成^[32],这些文献表面酒糟具有一定的护肤功效。

随着人们对天然、绿色、有机产品需求的不断

增加,从酒糟中提取有益成分用于医药、保健品、化妆品等领域的开发和利用已逐渐成为可能。这不仅可以实现资源再利用,减少环境污染,还可以为企业带来更多的商业机会和利润。值得一提的是,目前酒糟提取技术已经不断改进,已经出现了多种高效、安全、可持续的提取方法,使得酒糟中的有益成分得以更加充分地利用。因此,酒精饮料生产企业可以通过技术创新和产业升级,将废弃的酒糟转化为价值,实现良性循环,同时也为人们的身心健康和环境保护做出积极贡献。本研究通过对茅台酒糟化学成分进行系统研究,可以为进一步利用酒糟以及开发高附加值产品提供研究基础和思路。

References

- [1] Liu K. Chemical composition of distillers grains, a review[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, **59**(5): 1508-1526.
- [2] Li SZ. *Compendium of Materia Medica* (本草纲目)[M]. Xie QT, Compilation. Beijing: China International Broadcasting Audio Visual Press, 2006: 2228.
- [3] Editorial Board of Chinese Materia Medica, State Administration of Traditional Chinese Medicine. *Chinese Materia Medica* (中华本草)[M]. Shanghai: Science and Technology Press, 1999, 5: 767.
- [4] Jiang SY, Song H, Chen C, et al. Analysis of organic acids and flavoring compositions extracted from distiller's grains [J]. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技), 2019, **40**(17): 206-211.
- [5] Slim S, Lotifi M, Ahmed L, et al. Purification and structure elucidation of three naturally bioactive molecules from the new terrestrial *Streptomyces* sp. TN17[J]. *Nat Prod Res*, 2011, **25**(8): 806-814.
- [6] Hu YM, Yang ZL, Ye WC, et al. Studies on the constituents in rhizome of *Homalomena occulta*[J]. *Chin Tradit Patent Med* (中成药), 2006, **28**(12): 1794-1796.
- [7] Lalli JYY, Viljoen AM, Baser KHSC, et al. The essential oil composition and chemo taxonomical appraisal of South African *Pelargoniums*(Geraniaceae) [J]. *J Essent Oil Res*, 2006, **18**: 89-105.
- [8] Singh AP, Sharma, Surandra K. A new antimicrobial pentacyclic triterpenoid from the rhizomes of *Nardostachys jatamansi* DC[J]. *Indian J Chem B*, 2019, **58**B(4): 516-521.
- [9] Zhang YB, Xu XJ, Liu HM. Chemical constituents from *Mahkota dewa*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, **8**(1/2): 119-123.
- [10] Yang MX, Liang YG, Chen HR, et al. Chemical constituents from leaves of wild *Aquilaria sinensis*[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*(中草药), 2014, **45**(14): 1989-1992.

- [11] Subeki, Matsuura H, Takahashi K, et al. Screening of indonesian medicinal plant extracts for antibabesial activity and isolation of new quassinoids from *Brucea javanica*[J]. *J Nat Prod*, 2007, **70**(10): 1654-1657.
- [12] Qi J, Shi RF, Yu JM, et al. Chemical constituents from leaves of *Camellia nitidissima* and their potential cytotoxicity on SGC7901 cells[J]. *Chinese Herb Med*, 2016, **8**(1): 80-84.
- [13] Wang GH, Dai SK, Chen MJ, et al. Two diketopiperazine cyclo (pro-phe) isomers from marine bacteria *Bacillus subtilis* sp. 13-2 [J]. *Chem Nat Compd*, 2010, **46**(4): 583-585.
- [14] Wang XD. Study on chemical constituents and biological activities of distiller's grains and koji in Maotai Town, Guizhou Province(贵州茅台镇酒糟与酒曲化学成分及生物活性研究)[D]. Guiyang: Guizhou University, 2016.
- [15] Kong FD, Zhang Y, Ma QY, et al. Secondary metabolites from marine fungus *Penicillium* sp. SCS-KFD16[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs(中草药)*, 2018, **49**(21): 5029-5033.
- [16] Bertéli MBD, Barros L, Reis FS, et al. Antimicrobial activity, chemical composition and cytotoxicity of *Lentinus crinitus* basidiocarp[J]. *Food Funct*, 2021, **12**(15): 6780-6792.
- [17] De Santi LL, Pacheco BS, Venzke D, et al. Sterols in red macroalgae from antarctica: extraction and quantification by Gas Chromatography - Mass spectrometry[J]. *Polar Biol*, 2021, **44**(15): 987-995.
- [18] Shi L, Han L, Zhao Z, et al. Furanooids from the *Gymnadenia conopsea* (Orchidaceae) seed germination supporting fungus *Ceratobasidium* sp. (GS2) [J]. *Front Microbiol*, 2022, **13**: 1037292.
- [19] Wang T, Xie H, Chen X, et al. Simultaneous determination of leucine, isoleucine and valine in Beagle dog plasma by HPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, **114**: 426-432.
- [20] Meyer TE, Fox SD, Issaq HJ, et al. A reproducible and high-throughput HPLC/MS method to separate sarcosine from α - and β -alanine and to quantify sarcosine in human serum and urine [J]. *Anal Chem*, 2011, **83**(14): 5735-5740.
- [21] Zhang X, Su M, Du J, et al. Profiling of naturally occurring pro-anthocyanidins and other phenolic compounds in a diverse peach germplasm by LC-MS/MS[J]. *Food Chem*, 2023, **403**: 134471.
- [22] Nobakht M, Grkovic T, Trueman SJ, et al. Chemical constituents of kino extract from *Corymbia torelliana*[J]. *Molecules*, 2014, **19**(11): 17862-17871.
- [23] Li J, Liang X. Analysis of antitussive active ingredients of *Asplenium sampsonii*[J]. *China Pharm(中 国 药 房)*, 2021, **32**(15): 1837-1841.
- [24] Tisserant LP, Hubert J, Lequart M, et al. ^{13}C NMR and LC-MS profiling of stilbenes from elicited grapevine hairy root cultures [J]. *J Nat Prod*, 2016, **79**(11): 2846-2855.
- [25] Galdiero E, Ricciardelli A, D' Angelo C, et al. Pentadecanoic acid against *Candida albicans*-*Klebsiella pneumoniae* biofilm: towards the development of an anti-biofilm coating to prevent polymicrobial infections [J]. *Res Microbiol*, 2021, **172**(7/8): 103880.
- [26] Vikram A, Ante VM, Bina XR, et al. Cyclo(valine-valine) inhibits *Vibrio cholerae* virulence gene expression[J]. *Microbiology (Reading)*, 2014, **160**(6): 1054-1062.
- [27] Casadey R, Challier C, Altamirano M, et al. Antioxidant and antimicrobial properties of tyrosol and derivative-compounds in the presence of vitamin B2. Assays of synergistic antioxidant effect with commercial food additives[J]. *Food Chem*, 2021, **335**: 127576.
- [28] Panda S, Jafri M, Kar A, et al. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*[J]. *Fitoterapia*, 2009, **80**(2): 123-126.
- [29] Sunil C, Xu B. An insight into the health-promoting effects of taxifolin(dihydroquercetin) [J]. *Phytochemistry*, 2019, **166**: 112066.
- [30] Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, **585**(2-3): 325-337.
- [31] Mieremet A, Helder R, Nadaban A, et al. Contribution of palmitic acid to epidermal morphogenesis and lipid barrier formation in human skin equivalents[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(23): 6069.
- [32] Ko GA, Kim Cho S. Ethyl linoleate inhibits α -MSH-induced melanogenesis through Akt/GSK3 β / β -catenin signal pathway [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2018, **22**(1): 53-61.