

分离提取技术

从柚子落果中提取柚皮苷的杂质谱研究

张丽,唐官美,韦媛,卢振鸿,韩方方,张雪晴,郭志勇*

(三峡大学 a.生物与制药学院,b.天然产物研究与利用湖北省重点实验室,湖北 宜昌 443002)

摘要:柚皮苷是一种具有广泛用途的二氢黄酮类化合物,为建立基于碱提酸沉柚皮苷提取工艺的质量标准提供物质基础。通过反复重结晶,正向柱层析,制备液相及半制备液相等方法分离纯化,经 NMR,圆二色谱等手段鉴定结构。从微量杂质中分离鉴定 12 个杂质,分别为佛手酚(1)、7-Hydroxy-1-benzopiran-2-one(2)、Marmin(3)、Protocatechuic acid(4)、8-(6,7-dihydroxy-3,7-dimethyloct-1-en-3-yl)-5-hydroxy-6,7-furocoumarin(5)、Obacunone(6)、柚皮素(7)、7,4'-Dihydroxyflavone(8)、Rhoifolin(9)、Vicenin(10)、Neoeriocitrin(11)和 2S-Neoeriocitrin(12)。化合物 5 为首次从柚的果实中分离得到,为建立碱提酸沉工艺提取柚皮苷的质量标准建立提供物质基础。

关键词:柚皮苷;碱提酸沉提取工艺;香豆素;黄酮类化合物;杂质

中图分类号:O65 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2025)01-0061-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0288

Impurities Spectra of Naringin Products from the Abscission Fruits of *Citrus Maxima* (Burm.) Merr ZHANG Li, TANG Guan-mei, WEI Yuan, LU Zhen-hong, HAN Fang-fang, ZHANG Xue-qing, GUO Zhi-yong* (a. College of Biological and Pharmaceutical Sciences, b. HuBei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: Naringin is a kind of flavonoid with multifunctional uses. The impurities were isolated and identified from the alkali extraction and acid precipitation process of naringin. Repeated recrystallization, column chromatography, preparative and semipreparative HPLC was employed for isolation and purification. Then the purified impurities were identified by NMR and CD spectra. The twelve impurities were obtained and determined as Bergaptol (1), 7-Hydroxy-1-benzopiran-2-one (2), Marmin (3), Protocatechuic acid (4), 8-(6, 7-dihydroxy-3, 7-dimethyloct-1-en-3-yl)-5-hydroxy-6, 7-furocoumarin (5), Obacunone (6), Naringin (7), 7,4'-Dihydroxyflavone (8), Rhoifolin (9), Vicenin (10), Neoeriocitrin (11) and 2S-Neoeriocitrin (12). The above twelve impurities will help to establish quality control standards of naringin based on alkali extraction and acid precipitation process.

Key words: naringin; alkali extraction and acid precipitation process; coumarins; flavonoids; impurities

芸香科植物柚是我国亚热带地区栽培面积最广的果树之一,广泛栽培于长江沿线及以南地区,是一种常见的常绿果树^[1]。柚树受生理因素及自然环境等因素影响,每年约有 80% 的幼果被人工疏落或自然脱落^[2],导致约数千吨的幼果弃于果园腐烂,造成生态环境污染和资源浪费。柚皮苷作为柚子皮中的主要成分,是一种用途广泛的天然二氢黄酮苷类化合物,是著名中药化橘红的主要活性成分,具有化痰止咳,清热解毒功效,已注册成为一类新药^[3],还有抗菌^[4]、抗炎^[5]、抗病毒^[6]、抗癌^[7]、抗氧化^[8]、美白、降压等不同药理学功能^[9],同时可以作为天然色素、风味改良剂和苦味剂用于食品、饮料的生产加工等^[10],具有

较高的经济价值。

柚皮苷提取方法主要有热水浸提法、超声辅助提取法、有机溶剂(乙醇、甲醇)提取法等^[11],现有的柚皮苷提取工艺,虽然在一定程度上可以缩短提取时间,但这些方法不仅需要消耗大量有机溶剂,易导致安全隐患,且仪器设备要求高,导致成本大幅增高,重要的是提取率普遍较低,不能运用于大规模实际工业生产中。现有柚皮苷的来源基本为中药化橘红和成熟的柚子皮,然而中药化

收稿日期:2024-05-08;修回日期:2024-07-29

作者简介:张丽(1997-),女,彝族,四川凉山彝族自治州人,硕士生,主要从事天然药物化学研究。

通讯作者:郭志勇,E-mail:guozhycy@163.com。

橘红和成熟柚子皮中柚皮苷含量较低,提取率也较低,而柚子落果恰恰弥补了这一缺陷。刘磊磊等^[2]和李沛波等^[3]研究发现柚果在生长期,柚皮苷含量随时间的延长而下降,不同品种柚果在幼果期(拳头大小)柚皮苷含量最高。因而从柚子落果中提取柚皮苷,可高得率的获取柚皮苷,提高柚子相关产品附加值,使柚子产区由资源优势向产品优势转变。因此,利用废弃的柚子落果及人工疏果提取柚皮苷,具有较高的社会和经济价值。

因此,为解决上述这一系列问题,本研究以柚子落果为原料,采用碱提酸沉法从柚子落果中提取柚皮苷,碱提酸沉法是利用柚皮苷在碱性溶液中溶解度增大而在酸性溶液中溶解度降低而进行提取分离的一种提取技术。碱提酸沉法虽提取时间较长,但提取溶剂是石灰水溶液,不需消耗有机溶剂,提取工艺简单,无需高温高压等设备,成本低,单次提取数量较大,原料为柚子落果,柚子落果中柚皮苷含量高,产量高。采用碱提酸沉工艺提取得到的柚皮苷产品纯度可达 90% 以上,得率在 15% 以上,提取成本低,柚皮苷纯度高,品质质量较好,在该工艺基础上经重结晶可得到纯度 >95% 的柚皮苷,并对其杂质谱进行研究,从中分离鉴定了 12 个杂质,为建立在碱提酸沉工艺基础上的柚皮苷质量标准提供物质基础。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Bruker AV-400 型超导核磁仪、Dionex Ultimate 3000 型分析型高效液相色谱仪、EYELA SB-1100 型旋转蒸发仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司);XODL 型低温冷却液循环泵(南京先殿仪器制造有限公司);PUC0010 型高效液相色谱仪(北京清博华科技有限公司);LC2050 型高效液相色谱仪(合肥睿合科技有限公司);Chirascan 型圆二色谱光谱仪(英国应用光物理公司);MCP4100 型旋光仪(安东帕上海商贸有限公司);AQ-C18 制备型色谱柱、AQ-C18 半制备型色谱柱、AQ-C18 分析型色谱柱(广州艾欣科学仪器有限公司);Binder VDL 系列真空干燥箱(漳州德祥科技有限公司)。

柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶板(TLC, 青岛海洋化工产品有限公司);凝胶填料 Sephadex LH-20 (HPLC, 美国 Pharmacia 有限公司);氘代甲醇、

DMSO(NMR, 宁波萃英科技有限公司);色谱甲醇、色谱乙腈(HPLC, 湖北弗顿生化科技有限公司);二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、甲醇(分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司);晒干的柚子落果(湖北省神农架聚能药业有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 粗浸膏的提取

晒干的柚子落果粉碎后过 25 目筛,用电子天平称取一定量的粉末,按照提取条件液比 1:10 (g/mL),提取溶剂为质量浓度为 0.2% 的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液,提取温度 80 °C,提取时间 2 h,趁热过滤,弃去滤渣,保留滤液,滤液减压浓缩至其一半体积左右,放置室温下冷却至常温,向滤液中加入适量浓盐酸,调节 pH 值为 3,将其转移至 0 °C 冰箱冷却 24 h,取出,抽滤,弃去滤液,保留滤渣(即沉淀部分),把收集的沉淀置于 80 °C 的烘箱烘至恒重,即得柚皮苷粗品;将得到的柚皮苷粗品,用一定浓度(26%~30%)乙醇进行 2 次重结晶,即可得柚皮苷精制品(柚皮苷纯度 ≥ 95%);取 800 g 精制柚皮苷,经 5~6 次乙醇(浓度为 26%~30%)重结晶后,收集重结晶的滤液,弃去沉淀部分(沉淀部分为柚皮苷),将滤液合并,减压浓缩,即得 15.2 g 柚皮苷杂质粗浸膏。

1.2.2 单体化合物的分离纯化

将粗浸膏进行减压柱层析,以 $V(\text{甲醇}):V(\text{二氯甲烷})=0:100 \rightarrow 50:50$ 梯度洗脱,经薄层色谱(TLC)及分析型高效液相色谱分析,合并后得到 5 个组分(Fr.1~Fr.5)。高效液相色谱分析条件为:色谱柱:AQ-C18 分析型色谱柱;柱温 30 °C;检测波长:254 nm;检测器:紫外检测器;流动相:A 相:0.1% 甲酸水溶液,B 相:纯甲醇;梯度分布:0~30 min,10%~100% B;30~40 min,100% B;40~50 min,100%~10% B;进样量:10 μL ;流速:1 mL/min。

粗浸膏的色谱图见图 1。

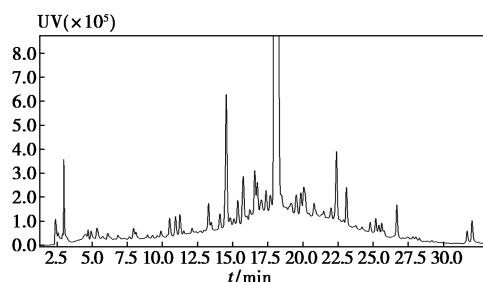


图 1 柚皮苷粗浸膏 HPLC 指纹图谱

Fig.1 HPLC fingerprint of naringin crude extract

Fr.1~Fr.5 的 5 个组分分别对应的流出区间如下: Fr.1: 19~27 min; Fr.2: 12.5~17 min; Fr.3: 17~19 min; Fr.4: 5~12.5 min; Fr.5: 27~30 min。

1. 32 g 组分 Fr.1 经硅胶柱层析分离,以 $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=90:10 \rightarrow 40:60$ 进行梯度洗脱,经 TLC 分析得到组分 Fr.1.1~Fr.1.6。Fr.1.1 经硅胶柱层析分离,以 $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=70:30$ 等度洗脱得 4 mg 化合物 1。Fr.1.2 经硅胶柱层析分离, $V(\text{甲醇}):V(\text{二氯甲烷})=12:88$ 等度洗脱得 90.3 mg 化合物 2。Fr.1.3 经半制备 HPLC 分离纯化,以 $V(\text{乙腈}):V(0.1\% \text{甲酸水溶液})=60:40$ 等度洗脱,流速为 2 mL/min,检测波长为 254 nm,得到 2.2 mg 化合物 3。Fr.1.4 经半制备 HPLC 分离纯化,以 $V(\text{乙腈}):V(0.1\% \text{甲酸水溶液})=40:60 \rightarrow 60:40$ 梯度洗脱,流速为 2 mL/min,检测波长为 254 nm,得到 1.8 mg 化合物 4 和 11.2 mg 化合物 5。Fr.1.5 硅胶柱层析分离,以 $V(\text{甲醇}):V(\text{二氯甲烷})=5:95 \rightarrow 15:85$ 梯度洗脱得 3.3 mg 化合物 6 和 2.4 mg 化合物 7。Fr.1.6 经半制备 HPLC 分离纯化,以 $V(\text{乙腈}):V(0.1\% \text{甲酸水溶液})=50:50$ 等度洗脱,流速为 2 mL/min,检测波长为 254 nm,得到 40.3 mg 化合物 8。将 0.92 g 组分 Fr.2 经制备 HPLC 分离,以 $V(\text{甲醇}):V(0.1\% \text{甲酸水溶液})=10:90 \rightarrow 90:10$ 梯度洗脱,经分析型高效液相色谱分析合并后得到 3 个组分 (Fr.2.1~Fr.2.3)。Fr.2.1 经半制备 HPLC 分离纯化,以 $V(\text{甲醇}):V(0.1\% \text{甲酸水溶液})=2:8$ 等度洗脱,流速为 2 mL/min,检测波长为 254 nm,得到组分 Fr.2.1.1~Fr.2.1.3。Fr.2.1.1、Fr.2.1.2、Fr.2.1.3 分别经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离纯化(甲醇)后分别得 4.6 mg 化合物 9、36.7 mg 化合物 10、12.4 mg 化合物 11。化合物 11,进一步通过手性色谱柱(大赛路 IA 型)分离得到 5 mg 化合物 11 和 5.5 mg 化合物 12。

Fr.3 组分部分主要为柚皮苷,Fr.4 组分分离得到两个化合物,但其结构与 Fr.2 片段中得到的一样,故未继续重复,Fr.5 组分经过初步分析基本为色素,未分离到有效的单体化合物。

2 结果与讨论

化合物 1: 佛手酚,无色针晶(甲醇)。 $^1\text{H NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 400 \text{ MHz}), \delta: 8.32(\text{d}, 1\text{H}, J=10$

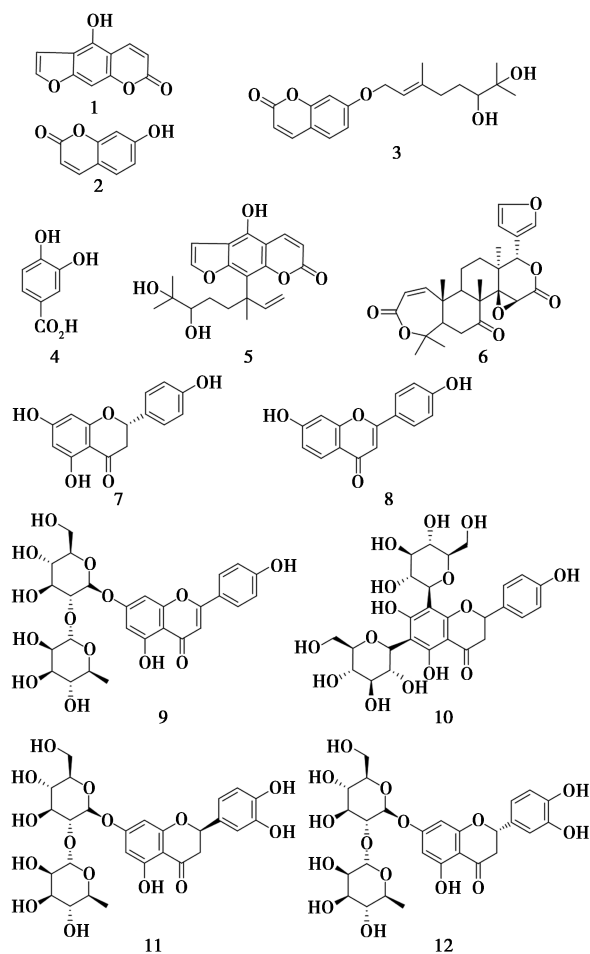


图 2 化合物 1~12 的化学结构

Fig.2 Chemical structures of compounds 1~12

Hz); 7.69(d, 1H, $J=2.4 \text{ Hz}$); 7.05(d, 1H, $J=1.8 \text{ Hz}$); 7.01(d, 1H, $J=1.8 \text{ Hz}$); 6.21(d, 1H, $J=10 \text{ Hz}$)。 $^{13}\text{C NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 100 \text{ MHz}), \delta: 163.9, 159.0, 154.1, 145.4, 145.0, 141.7, 114.0, 110.9, 105.4, 104.9, 91.8$ 。以上数据与文献[12]报道的佛手酚波谱数据一致,鉴定化合物 1 为佛手酚。

化合物 2: 7-Hydroxy-1-benzopirane-2-one, 白色粉末。 $^1\text{H NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 400 \text{ MHz}), \delta: 7.85(\text{d}, 1\text{H}, J=9.6 \text{ Hz}); 7.45(\text{d}, 1\text{H}, J=8.8 \text{ Hz}); 6.80(\text{dd}, 1\text{H}, J=8.4, 2.4 \text{ Hz}); 6.71(\text{m}, 1\text{H}); 6.20(\text{d}, 1\text{H}, J=9.2 \text{ Hz})$ 。 $^{13}\text{C NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 100 \text{ MHz}), \delta: 163.7, 163.2, 157.3, 146.1, 130.7, 114.5, 113.1, 112.4, 103.4$ 。化合物 2 的 NMR 数据与文献[13]报道的 7-Hydroxy-1-benzopirane-2-one 基本一致,故鉴定化合物 2 为 7-Hydroxy-1-benzopirane-2-one。

化合物 3: Marmin, 白色固体。 $^1\text{H NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 400 \text{ MHz}), \delta: 7.87(\text{d}, 1\text{H}, J=9.2 \text{ Hz}); 7.51(\text{d}, 1\text{H}, J=8.8 \text{ Hz}); 6.92(\text{dd}, 1\text{H}, J=8.8,$

2.4 Hz); 6.87 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz); 6.20 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz); 5.54 (dd, 1H, $J = 6.7, 5.3$ Hz); 4.67 (d, 2H, $J = 6.4$ Hz); 3.24 (m, 1H); 2.35 (m, 1H); 1.80 (s, 3H); 1.16 (s, 3H); 1.12 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz), δ : 163.8, 161.0, 157.1, 145.8, 143.2, 130.4, 120.3, 114.5, 113.9, 113.2, 102.5, 78.8, 73.7, 66.6, 37.6, 30.4, 25.8, 24.8, 16.8。以上 NMR 数据与文献[14]报道的 Marmin 的波谱数据一致, 故鉴定化合物 3 为 Marmin。

化合物 4: Protocatechuic acid, 白色固体。 ^1H NMR (DMSO, 400 MHz), δ : 7.33 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz); 7.28 (dd, 1H, $J = 8.0, 1.8$ Hz); 6.77 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz)。 ^{13}C NMR (DMSO, 100 MHz), δ : 167.5, 150.0, 144.9, 123.7, 121.9, 116.6, 115.2。以上数据与文献[15]报道的 Protocatechuic acid 的波谱数据一致, 故鉴定化合物 4 为 Protocatechuic acid。

化合物 5: 8-(6, 7-dihydroxy-3, 7-dimethyloct-1-en-3-yl)-5-hydroxy-6, 7-furocoumarin, 淡黄色粉末。 ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz), δ : 8.35 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz); 7.70 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz); 7.05 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz); 6.41 (dd, 1H, $J = 17.6, 10.8$ Hz); 6.20 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz); 4.97 (brd, 1H, $J = 17.6$ Hz); 4.96 (brd, 1H, $J = 10.8$ Hz); 3.18 (m, 1H); 2.66 (s, 1H); 2.10 (m, 1H); 1.84 (s, 3H); 1.33 (m, 1H); 1.18 (m, 1H); 1.02 (s, 3H); 0.94 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz), δ : 163.6, 158.5, 152.0, 149.1, 148.3, 145.2, 142.2, 115.0, 110.9, 110.8, 110.6, 106.3, 104.6, 80.5, 73.8, 45.8, 39.4, 28.1, 27.6, 25.7, 24.8。以上数据与文献[16]报道的 8-(6, 7-dihydroxy-3, 7-dimethyloct-1-en-3-yl)-5-hydroxy-6, 7-furocoumarin 的波谱数据一致, 故鉴定化合物 5 为 8-(6, 7-dihydroxy-3, 7-dimethyloct-1-en-3-yl)-5-hydroxy-6, 7-furocoumarin。

化合物 6: Obacunone, 无色晶体 (甲醇)。 ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz), δ : 7.48 (m, 1H); 7.40 (t, 1H, $J = 1.8$ Hz); 6.55 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz); 6.33 (m, 1H, $J = 1.8$ Hz); 5.96 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz); 5.48 (s, 1H); 3.61 (s, 1H); 2.99 (t, 1H, $J = 8.5$ Hz); 2.59 (dd, 1H, $J = 8.6, 4.5$ Hz); 2.33 (dd, 1H, $J = 14.1, 5.0$ Hz); 2.10 (brd, 1H, $J = 8.5$ Hz); 1.50 (s, 6H), 1.44 (s, 3H); 1.20 (s, 3H); 1.16 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz), δ :

208.1, 167.5, 167.3, 157.5, 143.7, 141.7, 123.6, 120.7, 110.3, 84.5, 78.6, 65.7, 58.1, 54.1, 53.7, 49.8, 43.7, 40.6, 38.1, 33.5, 32.6, 27.6, 21.7, 20.2, 17.7, 17.1。以上 NMR 数据与文献[17]中的 Obacunone 的波谱数据一致, 故鉴定化合物 6 为 Obacunone。

化合物 7: 柚皮素, 淡黄色粉末。 ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz), δ : 7.29 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz); 6.80 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz); 5.89 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz); 5.88 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz); 5.30 (dd, 1H, $J = 13.0, 3.0$ Hz); 3.10 (dd, 1H, $J = 17.1, 13.0$ Hz); 2.67 (dd, 1H, $J = 17.1, 3.0$ Hz)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz), δ : 197.7, 168.3, 165.4, 164.8, 158.9, 131.0, 129.0, 116.3, 103.3, 97.0, 96.2, 80.4, 43.9。以上 NMR 数据与文献[18]报道的柚皮素的波谱数据一致, 故鉴定化合物 7 为柚皮素。

化合物 8: 7, 4'-Dihydroxyflavone, 白色粉末。 ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz), δ : 8.10 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz); 7.90 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz); 7.50 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz); 7.30 (s, 1H); 7.10 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz); 6.90 (m, 1H, $J = 8.5$ Hz); 6.76 (s, 1H)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz), δ : 176.6, 162.8, 160.4, 154.1, 149.1, 129.0, 128.1, 124.5, 122.9, 121.7, 119.6, 115.7, 115.6, 107.5, 103.8。以上 NMR 数据与文献[19]报道的 7, 4'-Dihydroxyflavone 数据一致, 故鉴定化合物 8 为 7, 4'-Dihydroxyflavone。

化合物 9: Rhoifolin, 淡黄色固体。 ^1H NMR (DMSO, 400 MHz), δ : 7.86 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz); 6.93 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz); 6.74 (m, 1H); 6.63 (s, 1H); 6.43 (s, 1H); 5.29 (s, 1H); 5.18 (m, 1H); 1.33 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz)。 ^{13}C NMR (DMSO, 100 MHz), δ : 181.9, 164.3, 162.6, 161.6, 161.1, 156.9, 129.0, 128.6, 120.9, 116.1, 116.0, 105.4, 103.1, 100.5, 99.3, 97.8, 94.5, 77.2, 77.0, 76.3, 71.9, 70.4, 69.7, 69.6, 68.3, 60.5, 18.1。以上数据与文献[20]报道的 Rhoifolin 的一致, 故鉴定化合物 9 为 Rhoifolin。

化合物 10: Vicenin, 淡黄色固体。 ^1H NMR (DMSO, 400 MHz), δ : 13.76 (s, 1H); 13.71 (s, 1H); 8.04 (s, 1H); 7.37 (s, 1H); 6.81 (m, 2H); 5.32 (m, 1H); 4.75 ~ 4.81 (m, 2H); 3.85 ~ 3.90 (m, 6H); 3.38 ~ 3.54 (m, 6H); 3.11 (dd, 1H, $J = 16.5, 13.0$ Hz); 2.80 (dd, 1H, $J = 16.5, 3.0$ Hz)。

^{13}C NMR (DMSO, 100 MHz), δ : 196.3, 164.0, 161.2, 158.6, 106.5, 102.6, 81.9, 80.9, 78.9, 77.9, 74.1, 73.4, 71.9, 71.0, 70.6, 69.1, 61.3, 59.9, 59.8, 43.2。以上 NMR 数据与文献[21]中的 Vicenin 的波谱数据一致,故鉴定化合物 10 为 Vicenin。

化合物 11 和 12:Neoeriocitrin 和 2S-Neoeriocitrin,淡黄色针晶。化合物 11 和 12 在分离过程中,开始以混合物形式存在,其碳谱中显示部分碳信号有肩峰存在,进一步通过手性色谱柱(大赛路 IA 型)拆分,发现化合物 11 是个混合物,可能是苷元上的手性异构体,并通过 CD 谱确定化合物 11 为 Neoeriocitrin,其 2 位的绝对构型为 *R*,而化合物 12 的 2 位绝对构型为 *S*^[22]。 ^1H NMR (DMSO, 400 MHz), δ : 12.06(s, 1H); 6.89(d, 1H, $J=1.8$ Hz); 6.78(d, 1H, $J=7.4$ Hz); 6.75(m, 1H); 6.10(d, 2H, $J=2.4$ Hz); 5.39(dd, 1H, $J=11.8, 2.8$ Hz); 5.10(m, 1H); 5.09(m, 1H); 3.74~3.16(m, 10H); 3.14(m, 1H); 2.70(m, 1H); 1.16(m, 3H)。 ^{13}C NMR (DMSO, 100 MHz), δ : 197.4, 164.9, 163.0, 162.8, 146.0, 145.9, 129.3, 118.3, 115.4, 114.6, 103.4, 100.5, 97.4, 96.3, 95.2, 79.0, 78.7, 77.2, 77.0, 71.9, 70.5, 70.4, 69.6, 68.3, 60.5, 42.3, 18.1。以上 NMR 数据与文献[23]中的 Neoeriocitrin 的波谱数据一致,故鉴定该化合物为 11 为 Neoeriocitrin,化合物 12 为 2S-Neoeriocitrin^[24]。

3 结论

在利用湖北宜昌地区周围废弃柚子落果的过程中以碱提酸沉法提取柚皮苷,该工艺简单,成本低,得率高,产品质量好,为柚皮苷的应用和深入开发提供物质保证。在此基础上对其杂质进行分离纯化与鉴定,通过 NMR 等现代光谱学手段鉴定 12 个杂质,其中包括 4 个香豆素类化合物,1 个柠檬苦素类化合物,1 个简单苯甲酸衍生物和 6 个黄酮类衍生物,分别为佛手酚(1)、7-Hydroxy-1-benzopirane-2-one(2)、Marmin(3)、4-二羟基苯甲酸(4)、8-(6,7-dihydroxy-3,7-dimethyloct-1-en-3-yl)-5-hydroxy-6,7-furocoumarin(5)、Obacunone(6)、柚皮素(7)、7,4'-Dihydroxyflavone(8)、Rhoifolin(9)、Vicenin(10)、Neoeriocitrin(11)和 2S-Neoeriocitrin(12),其中化合物 5 为首次从柚子落果中获得,为柚皮苷的大规模工业化提取提供了杂质

结构,进一步为柚皮苷质量标准的建立提供保障。

在前期的柚皮苷提取工艺的探索过程中,在实验室规模放大 500 g 及工厂规模 300~500 kg 级别放大提取实验结果表明,碱提酸沉的提取工艺提取柚皮苷的得率非常稳定(已申请专利),且柚皮苷纯度可以控制 95%~97% 之间,表明我们的工艺是可行的。柚子树在长江以南地区有广泛的栽培,柚子的产量较高,由于柚树的生理、人为及气候原因,每年有千万吨的柚子落果产生,任意堆置,不仅污染环境,难以处理,造成大量的资源浪费,通过对柚子落果的再利用,一方面改善农村环境,同时也可增加农民收入,变废为宝。由于柚皮苷作为一类新药,本身具有较高的药用价值,可作为原料药,同时柚皮苷的衍生物柚皮苷二氢查尔酮及新橙皮苷二氢查尔酮作为第三代的甜味剂的代表,在食品工业中有着广泛的应用前景^[25];柚皮苷还可转化为其他有用的黄酮衍生物,如根皮素等^[26]。从柚子落果中提取柚皮苷可以增加柚子相关产品的附加值,延长柚子相关产业的产业链,为新农村的产业发展提供新的思路。综上所述,从柚子落果中提取柚皮苷的质量控制就显得尤为重要。

参考文献:

- [1] Qian C P, Chen H Y, Wu Z Y. Flora of China. Beijing: Science Press, 1999.
钱崇澍,陈焕镛,吴征镒.中国植物志.北京:科学出版社,1999.
- [2] CN107955051A. Liu L L, Li L, Li X N. 2018-04-24.
CN107955051A. 刘磊磊,李立,李秀娜. 2018-04-24.
- [3] Li P B, Wang Y G, Wu Z, Peng W, Yang C P, Nie Y C, Liu M H, Luo Y L, Zou W, Liu Y, Wang S, Chen Y, Su C, Fang S Q, Su W W. Acta Sci. Nat. Univ. Sunyatseni, 2015, 54(6): 5-8.
李沛波,王永刚,吴忠,彭维,杨翠平,聂怡初,刘孟华,罗钰龙,邹威,柳颖,王声,陈妍,苏畅,方思琪,苏薇薇. 中山大学学报(自然科学版), 2015, 54(6): 5-8.
- [4] Su L, Liu Q D. Chin. J. Pharm. Technol. Econom. Management, 2008, 10(2): 74-80.
苏玲,刘启德. 中国医药技术经济与管理, 2008, 10(2): 74-80.
- [5] Huang F X, Lin J X. Acta Med. Sinica, 2009, 22(4): 777-779.
黄凤香,林家逊. 华夏医学, 2009, 22(4): 777-779.
- [6] Jin Y B, Liu P, Liu X G, Jin G. Modern Med. J. China,

- 2018, **20**(3): 92-97.
- 金元宝, 刘萍, 刘小根, 金刚. 中国现代医药杂志, 2018, **20**(3): 92-97.
- [7] Li J D, Huang Q R. *J. North Pharm.*, 2014, **11**(7): 67-68.
- 李积东, 黄起壬. 北方药学, 2014, **11**(7): 67-68.
- [8] Zang Q M, Huang Y M, Yang R Q, Wang J R, Chen Y J, Wang Z X, Zhang Y W. *Chem. Reagents*, 2023, **45**(12): 54-61.
- 臧青民, 黄雅曼, 杨瑞清, 王佳蕊, 陈咏涓, 王则寻, 章烨雯. 化学试剂, 2023, **45**(12): 54-61.
- [9] Chen J. The Synergistic Sterilization Effect of Naringin and its Metal Complexes With Pulsed Electric Fields on Microorganism. Guangzhou: South China University of Technology, 2015.
- 陈婧. 柚皮苷及其金属络合物与脉冲电场协同杀菌作用研究. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [10] Li K X. Extraction and Modification of Pectin and Naringin from Pomelo Drop and their Application in Yogurt Processing. Nanchang: NangChang University, 2023.
- 黎珂欣. 柚子落果果胶及柚皮苷的提取改造及其在酸乳加工中的应用. 南昌: 南昌大学, 2023.
- [11] Yu H W, Gu W N, Li N, Zhang F, Liu X F, Wei H M. *HuBei Agric. Sci.*, 2011, **50**(8): 1 516-1 518.
- 于宏伟, 谷维娜, 李娜, 张芳, 刘晓芳, 位会棉. 湖北农业科学, 2011, **50**(8): 1 516-1 518.
- [12] Luo X, Wang X J, Zhao Y W, Huang W Z, Xu Z L, Wang Z Z, Xiao W. *Chin. Herbal Med.*, 2016, **47**(9): 1 492-1 495.
- 罗鑫, 王雪晶, 赵祎武, 黄文哲, 许治良, 王振中, 萧伟. 中草药, 2016, **47**(9): 1 492-1 495.
- [13] Tiago S N B S, Raquel B S S N, Davi A E S, Josean T, Edeltrudes D O L, Fillipe D O P, Milen D S F, Fernando D M, Rosangela D S F R S, Raimundo F. *Molecules*, 2013, **18**(9): 11 086-11 099.
- [14] Zhao Y L, Yang X W, Wu B, Shang J, Liu Y P, Dai Z, Luo X D. *J. Agric. Food Chem.*, 2019, **67**(32): 8 810-8 818.
- [15] Huang M J, Zeng G Y, Tan J B, Li Y L, Tan G S, Zhou Y J. *China J. Chin. Mat. Med.*, 2008, **14**(33): 1 700-1 702.
- 黄明菊, 曾光尧, 谭健兵, 李妍岚, 谭桂山, 周应军. 中国中药杂志, 2008, **14**(33): 1 700-1 702.
- [16] Xiong Y, Chang M, Deng K, Luo Y. *Nat. Prod. Res.*, 2016, **30**(14): 1 571-1 576.
- [17] Yong D M, Kwon H C, Min C Y, Lee K H, Sang U C, Kang R L. *Arch. Pharm. Res.*, 2007, **30**(1): 58-63.
- [18] Peng J, He R J, Xie T J, Yang B Y, Wang Y F, Huang Y L. *Nat. Prod. Res. Develop.*, 2023, **35**(1): 47-53.
- 彭京, 何瑞杰, 谢桃结, 阳丙媛, 王亚凤, 黄永林. 天然产物研究与开发, 2023, **35**(1): 47-53.
- [19] Ibrahim A R, Abul-Hajj Y J. *J. Nat. Prod.*, 1990, **53**(6): 1 471-1 481.
- [20] Wang D, Du N, Wen L, Zhu H, Liu F, Wang X, Du J, Li S. *Molecules*, 2017, **22**(2): 229-241.
- [21] Sato S, Akiya T, Nishizawa H, Suzuki T. *Carbohydr. Res.*, 2006, **341**(8): 964-970.
- [22] Hua H M, Lou H X. Natural Medicinal Chemistry (8th edition). Beijing: People's Medical Press, 2022.
- 华会明, 娄红祥. 天然药物化学(第 8 版). 北京: 人民卫生出版社, 2022.
- [23] Liang Y H, Ye M, Han J, Wang B R, Guo D A. *Chin. Herbal Med.*, 2011, **2**(1): 5-30.
- 梁永红, 叶敏, 韩健, 王宝荣, 果德安. 中草药, 2011, **2**(1): 5-30.
- [24] Matchide M G T, Hnin S Y Y, Nguekeu Y M M, Matheuda E G, Nghokeng J, Tabakam G T, Djoumbissie R A D, Ngouela S A, Lee Y E, Tene M, Morita H, Awouafack M D. *Chem. Biodivers.*, 2023, **20**(9): e202 301 127.
- [25] Li Z H, Huang B H, Zhou J L, Lu Y J, Zhen W C. *Food Sci.*, 2022, **43**(24): 83-92.
- 黎志豪, 黄宝华, 周金林, 卢宇靖, 甄维聪. 食品科学, 2022, **43**(24): 83-92.
- [26] Liu Y. Microbial Transformati on Strains Screening of Five Natural Products and Study of Solvent-induced Secondary Metabolites. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2014.
- 刘雅. 五种天然产物的微生物转化菌株的筛选及溶剂诱导的次级代谢产物研究. 天津: 天津科技大学 2014.