

• 化学工程与材料工程 •

DOI:10.15961/j.jsuese.202000036



本刊网刊

## 土田七中化学成分分离与鉴定

马丽芳<sup>1</sup>, 李燕<sup>1</sup>, 陈凯<sup>1</sup>, 汪伦<sup>2</sup>

(1.四川大学 化学工程学院, 四川 成都 610065; 2.四川大学 生物治疗国家重点实验室, 四川 成都 610041)

**摘要:**姜科是多年生草本植物的一个大科,其成员因其可食用性、生物活性和药用活性而引起人们对植物化学的兴趣。姜科植物土田七的根茎在传统医学中一直被用于治疗炎症、疼痛和发烧。为阐明土田七的作用机制和对其进一步开发利用,系统研究土田七的化学成分具有重要意义。目前已经从土田七中分离出卡丹烷二聚体、倍半萜类等化合物,为进一步研究土田七的化学成分,利用半制备型高效液相色谱、柱色谱等多种色谱分离技术对土田七进行了系统分离纯化,并利用高分辨质谱和核磁共振波谱鉴定了所得单体化合物的结构。从土田七75%乙醇提取物的乙酸乙酯部位和正己烷部位中,分离鉴定出了11个化合物,分别为豆甾醇(1)、5,5'-二羟甲基糠醛(2)、顺式-6-甲基-5-亚甲基-3-亚乙基-6-乙酰氧基己二酸(3)、反式-(2R,3S)-2,3-二甲基-5-亚乙基-2-乙酰氧基己二酸(4)、反式-(2R,3S)-2,3-二甲基-5-亚乙基-2-羟基己二酸(5)、2,5-二羟基甲苯(6)、2-乙基-2-丁烯酸(7)、糠酸(8)、反式-4-羟基肉桂酸(9)、千里光宁碱(10)、乙酰化千里光菲林碱(11)。其中化合物3为新化合物,其余化合物为已知化合物。化合物3为无定型粉末,通过质谱数据 $[M+Na]^+=279.0841$ 可确定化合物的分子式为 $C_{12}H_{16}O_6$ 。根据 $^{13}C$  NMR谱图和HSQC数据可确定C-H关系,再结合COSY谱可以推断出该化合物的结构。通过 $^1H$  NMR谱图数据中C-2烯烃质子的化学位移可推测C-2和C-3之间的烯烃为Z型,故命名为顺式-6-甲基-5-亚甲基-3-亚乙基-6-乙酰氧基己二酸。

**关键词:**姜科; 土田七; 化学成分

中图分类号:R248.1

文献标志码:A

文章编号:2096-3246(2021)02-0158-06

### Isolation and Identification of Chemical Constituents from *Stahlianthus involucratu*s

MA Lifang<sup>1</sup>, LI Yan<sup>1</sup>, CHEN Kai<sup>1</sup>, WANG Lun<sup>2</sup>

(1.School of Chemical Eng., Sichuan Univ., Chengdu 610065, China; 2.State Key Lab. of Biotherapy, Sichuan Univ., Chengdu 610041,China)

**Abstract:** Zingiberaceae is a large family of the perennial herbaceous plants, members of which have attracted continuous phytochemical interest due to their culinary uses as well as their biological and the pharmaceutical activities. *Stahlianthus involucratu*s is a tropical Zingiberaceae plant and its rhizomes have long been used in traditional medicine to treat inflammation, pain, and fever. In order to clarify the action mechanism of *Stahlianthus involucratu*s and its further development and utilization, systematic study of the chemical composition of *Stahlianthus involucratu*s is of great significance. Previous phytochemical investigations on this species resulted in isolation of cadinane dimers, sesquiterpenoids. In order to further study the chemical constituents of *Stahlianthus involucratu*s, different column chromatographic techniques such as semi-preparative high performance liquid chromatography and the column chromatography were used to separate and the purify chemical constituents from ethyl acetate fraction and n-hexane fraction of 75% ethanol extract of *Stahlianthus involucratu*s, and the structures of monomer compound were elucidated by mass spectrometry and NMR. Eleven compounds were separated and purified, which were identified as: stigmasterol (1), 2-hydroxy-1,2-bis[5-(hydroxymethyl)-2-furanyl]ethanone (2), (Z)-2-acetoxy-5-ethylidene-2-methyl-3-methylenehexanedioic acid (3), hexanedioic acid, 2-(acetyloxy)-5-ethylidene-2,3-dimethyl-, [R-[R\*,S\*-(Z)]]-(9CI) (4), hexanedioic acid, 5-ethylidene-2-hydroxy-2,3-dimethyl-, [R-[R\*,S\*-(Z)]]-(9CI) (5), 1,4-dihydroxy-2-methylbenzene (6), 2-ethyl-2-butenic acid (7), 2-furoic acid (8), (2E)-3-(4-hydroxyphenyl)-

收稿日期:2020-01-08

作者简介:马丽芳(1964—),女,副教授,研究方向:药物的研制与开发. E-mail: mlfang11@scu.edu.cn

网络出版时间:2021-02-08 15:36:42

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1773.TB.20210208.1056.001.html>

2-propenoic acid (9), senecio-nan-11,16-dione (10), Seneciphyllinine (11). Among these compounds, compound 3 was a new natural product and the others were known compounds. Compound 3 was obtained as a white amorphous powder. Its molecular formula was established as  $C_{12}H_{16}O_6$  by mass spectrometry at  $m/z$  279.0841 ( $[M+Na]^+$ ). The relationship of C–H can be determined by  $^{13}C$  NMR spectrum and HSQC experiments. Combined with the COSY spectrum, the structure of the compound can be inferred. According to chemical shift of the C–2 olefin proton in the  $^1H$  NMR spectrum data, it can be inferred that the olefin between C–2 and C–3 is of *Z*-isomerism. Herein, compound 3 was named as (*Z*)-2-acetoxy-5-ethylidene-2-methyl-3-methylenhexanedioic acid.

**Key words:** zingiberaceae; *stahlianthus involucratus*; chemical constituent

土田七 [*Stahlianthus involucratus* (King ex Bak.) Craib], 别名也叫姜七、三七姜、姜叶三七、竹叶三七, 为姜科土田七属植物土田七的块根和根茎。姜科植物是多年生草本植物大家族, 种类繁多, 是热带和亚热带地区分布最广的植物之一, 大约有47属1400种。姜科植物是次生代谢产物的来源, 具有丰富的化学结构和重要的生物活性。目前, 姜科植物因其植物化学和药理特性被广泛研究, 许多姜科植物中分离出多种具有药理作用的活性化合物。

植物土田七, 分布于中国的云南、广西、广东、福建等省, 在印度也有分布<sup>[1]</sup>。其味辛、微苦, 性温, 具有散瘀消肿, 活血止血之功效。作为一种民间药, 它的根茎长期以来一直用于传统医学中治疗炎症, 疼痛和发烧<sup>[2]</sup>。

根据已有文献报道, 目前从土田七中分离得到的化合物包含麦角烷二聚物、倍半萜类、卡丹烷二聚体<sup>[3-6]</sup>。由于对该植物成分与活性的报道较少, 给该药用植物的使用、推广以及鉴定等方面带来较大的困难。为了进一步寻找土田七中化学成分, 给土田七的应用奠定物质基础, 作者利用半制备型高效液相色谱、柱色谱等多种色谱分离技术对土田七进行分离纯化, 并采用质谱和核磁共振波谱鉴定了所得化合物的结构, 为土田七的活性研究奠定物质基础。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与材料

Bruker avance 400型核磁共振仪, 德国布鲁克公司; QTOF质谱仪和ESI离子源, 英国沃特世公司; 旋转蒸发器, 瑞典BUCHI R200; 半制备型高效液相色谱, 美国沃特斯; Water 2695液相色谱仪, 美国Waters公司; 中压柱层析系统, 瑞士Buchi Flawil公司; MCI-gel CHP 20树脂, 日本三菱公司; Sephadex LH-20, 美国Amersham P-harmacia Biotech公司; 柱层析硅胶, 德国默克公司。

药材由四川大学生物治疗国家重点实验室胡以国教授提供, 采自云南, 并鉴定为土田七 [*Stahlianthus involucratus* (King ex Bak.) Craib]。

### 1.2 提取与分离

土田七提取流程图如图1所示。土田七根茎2 kg,

经粉碎后, 采用60目的筛网过筛, 用75%乙醇(3 L)加热回流提取, 每次提取3 h, 提取3次合并提取液, 用旋转蒸发器减压浓缩得到浸膏412 g。将浸膏用温水(5 L)分散, 分别用正己烷(5 L/次)、乙酸乙酯(5 L/次)、正丁醇(5 L/次)3种溶剂进行萃取, 每种溶剂萃取3次, 将各部分用旋转蒸发器减压浓缩, 得到正己烷部分26 g, 乙酸乙酯部分61 g, 正丁醇部分146 g。

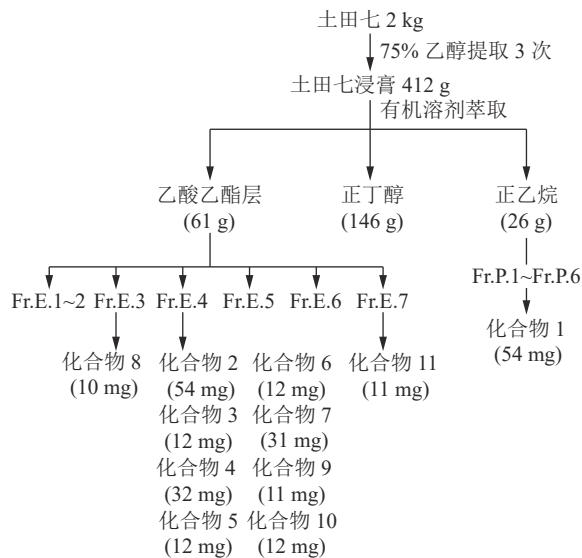


图1 土田七提取分离流程图

Fig. 1 Flowchart for extraction and isolation of *Stahlianthus involucratus*

将正己烷部分(20 g)用硅胶(60~100目)干法拌样, 旋干后进行中压柱层析(100~200目)分离, 用石油醚-乙酸乙酯作流动相进行梯度洗脱(1:0~0:1, v/v), 每250 mL收集1次, 通过TLC(薄层色谱法)进行检测, 用旋转蒸发器将洗脱液分别减压回收溶剂, 得到6个组分(Fr.P.1~Fr.P.6)。Fr.P.3(2.69 g)采用中压柱层析(200~300目), 用石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱(50:1~0:1, v/v), 每50 mL收集1次, 通过TLC进行检测, 用旋转蒸发器将洗脱液分别减压回收溶剂, 得到5个组分(Fr.P.3.1~Fr.P.3.5)。进一步对Fr.P.3.1用中压柱层析(200~300目)分离, 用石油醚和乙酸乙酯作流动相进行梯度洗脱(50:1~0:1, v/v), 经TLC检测后得到了4个组分(Fr.P.3.1.1~Fr.P.3.1.4)。Fr.P.3.1.3采用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire  $C_{18}$ , 5  $\mu m$ , 4.6 $\times$ 150 mm), 用甲醇和水(95:5,

v/v)进行等度洗脱,得到化合物1。

将乙酸乙酯部分(50 g)用硅胶(60~100目)干法拌样,旋干后进行中压柱层析(100~200目)分离,用石油醚-乙酸乙酯作流动相进行梯度洗脱(1:0~0:1, v/v)。通过TLC进行检测,每500 mL收集1次。用旋转蒸发器将收集的洗脱液分别减压回收溶剂,得到7个组分(Fr.E.1~Fr.E.7)。Fr.E.3(2.3 g)用硅胶(200~300目)干法拌样,旋干后进行中压柱层析(200~300目)分离,用石油醚和乙酸乙酯作流动相进行梯度洗脱(40:1~0:1, v/v),每100 mL收集1次,通过TLC进行检测,用旋转蒸发器将收集的洗脱液分别减压回收溶剂,得到6个组分(Fr.E.3.1~Fr.E.3.6)。Fr.E.3.6用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm),在甲醇和水(80:20, v/v)的条件下等度洗脱,得到化合物8。Fr.E.4(5.9 g)用Sephadex LH-20柱(填料为Sephadex LH-20, 50 μm),采用二氯甲烷和甲醇(1:1, v/v)进行等度洗脱,共得到5个组分(Fr.E.4.1~Fr.E.4.5)。Fr.E.4.3采用Sephadex LH-20柱(填料为Sephadex LH-20, 50 μm),用二氯甲烷和甲醇(1:1, v/v)进行等度洗脱,得到9个组分(Fr.E.4.3.1~Fr.E.4.3.9)。进一步采用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm)对Fr.E.4.3.1分离,用甲醇和水(60:40, v/v)进行等度洗脱得到化合物2。Fr.E.4.3.4采用中压柱层析(200~300目),用石油醚和乙酸乙酯作流动相进行梯度洗脱(20:1~1:1, v/v),共得到5个组分(Fr.E.4.3.4.1~Fr.E.4.3.4.5)。Fr.E.4.3.4.1用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm),用甲醇和水(60:40, v/v)作流动相进行等度洗脱,得到化合物4和5。Fr.E.4.3.4.2用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm),用甲醇和水(55:45, v/v)作流动相进行等度洗脱,得到化合物3。Fr.E.4.3.4.4利用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm),用甲醇和水(50:50, v/v)作流动相进行等度洗脱,得到化合物7。Fr.E.4.3.6利用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm),用甲醇和水(45:55, v/v)进行等度洗脱得到化合物6,利用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm)对Fr.E.4.3.7分离,用甲醇和水(45:55, v/v)进行等度洗脱得到化合物9和10。采用MCI柱(填充材料为MCI-gel CHP 20P, 70~150 μm)对Fr.E.7(25.6 g)进行分离,用乙醇和水(1:3, 1:1, 3:1和1:0, v/v)进行梯度洗脱得到4个组分(Fr.E.7.1~Fr.E.7.4)。将Fr.E.7.3进一步采用乙醇和水(3:1~1:0, v/v)做流动相用MCI柱(填充材料为MCI-gel CHP 20P, 70~150 μm)分离,得到5个组分(Fr.E.7.3.1~

Fr.E.7.3.5)。最后采用半制备液相色谱柱(填料为Sunfire C<sub>18</sub>, 5 μm, 4.6×150 mm)纯化Fr.E.7.3.3,用甲醇和水(35:65, v/v)进行等度洗脱得到化合物11。

分离纯化所得化合物进一步采用核磁共振波谱鉴定化合物的结构,根据核磁谱图和薄层色谱(TLC)可判定化合物纯度无杂质,纯度较高。

### 1.3 结构鉴定

化合物1:无定型粉末。ESI-MS(*m/z*):413.3705 ([M+H]<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ: 5.35(1H, m, H-6), 5.15(1H, dd, *J*=8.4, H-22), 5.02(1H, dd, *J*=8.4, H-23), 3.53(1H, m, H-3), 2.30~0.64(43H, m)。<sup>13</sup>C NMR(101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ: 140.77(C-5), 138.32(C-22), 129.30(C-23), 121.72(C-6), 71.81(C-3), 56.88(C-14), 55.98(C-17), 51.25(C-24), 50.18(C-9), 42.32(C-4), 42.23(C-13), 40.49(C-20), 39.70(C-12), 37.27(C-1), 36.53(C-10), 36.16(C-25), 31.89(C-8), 31.68(C-2), 28.92(C-7), 25.41(C-15), 24.37(C-16), 24.31(C-28), 21.22(C-21), 21.10(C-11), 19.41(C-19), 18.99(C-26), 12.25(C-18), 12.06(C-29) 11.87(C-27)。以上数据与文献报道<sup>[7]</sup>一致,故鉴定化合物1为甾甾醇。

化合物2:无定型粉末。ESI-MS(*m/z*):253.0641 ([M+H]<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ: 7.40(1H, d, *J*=3.6, H-2), 6.60(1H, d, *J*=3.6, H-3), 6.38(1H, d, *J*=3.1, H-2'), 6.30(1H, d, *J*=3.1, H-3'), 5.40(1H, s, H-7), 4.63(2H, s, H-5), 4.51(2H, s, H-5')。<sup>13</sup>C NMR(101 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ: 178.06(C-6), 161.82(C-4), 154.70(C-4'), 152.50(C-1), 150.65(C-1'), 123.43(C-2), 109.51(C-3), 108.83(C-2'), 107.47(C-3'), 97.89(C-7), 56.25(C-5), 55.98(C-5')。以上数据与文献报道<sup>[8]</sup>一致,故鉴定的化合物2为5,5'-二羟甲基糠醛。

化合物3:无定型粉末。ESI-MS(*m/z*):257.1025 ([M+H]<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(400 Hz, CD<sub>3</sub>OD): δ: 5.98(1H, q, *J*=6.8, H-2), 5.20(1H, s, H-10), 4.86(1H, s, H-10), 3.02(2H, s, H-4), 1.97(1H, s, CH<sub>3</sub>-12), 1.91(3H, d, *J*=6.8, CH<sub>3</sub>-1), 1.62(3H, s, CH<sub>3</sub>-7)。<sup>13</sup>C NMR(101 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ: 172.39(C-7), 170.04(C-11), 169.53(C-8), 146.38(C-5), 138.64(C-2), 130.56(C-3), 111.61(C-10), 82.98(C-6), 35.54(C-4), 20.94(C-9), 19.84(C-12), 14.55(C-1)。命名为顺式-6-甲基-5-亚甲基-3-亚乙基-6-乙酰氧基己二酸。

化合物4:无定型粉末。ESI-MS(*m/z*):259.1103 ([M+H]<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ: 6.06(1H, d, *J*=7.1, H-2), 2.61(1H, m, H-4), 2.18(1H, m, H-5), 2.10(1H, m, H-4), 2.09(3H, s, CH<sub>3</sub>-11), 2.02(3H, d, *J*=7.1, CH<sub>3</sub>-1), 1.72(3H, s, CH<sub>3</sub>-9), 0.82(3H, d,

$J=7.2$ ,  $\text{CH}_3-12$ )。 $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 173.02 (C-10), 170.12 (C-7), 169.77 (C-8), 138.28 (C-2), 130.83 (C-3), 83.49 (C-6), 35.61 (C-4), 32.23 (C-5), 21.02 (C-9), 19.93 (C-11), 14.52 (C-1), 12.11 (C-12)。以上数据与文献报道<sup>[9]</sup>一致,故鉴定化合物4为反式-(2R, 3S)-2, 3-二甲基-5-亚乙基-2-乙酰氧基己二酸。

化合物5: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 217.0154 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 6.16 (1H, d,  $J=7.6$ , H-2), 2.57 (1H, m, H-4), 2.28 (1H, m, H-5), 2.20 (1H, m, H-4), 2.01 (3H, d,  $J=7.6$ ,  $\text{CH}_3-1$ ), 1.39 (3H, s,  $\text{CH}_3-9$ ), 0.92 (3H, d,  $J=6.8$ ,  $\text{CH}_3-10$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 174.70 (C-7), 165.42 (C-8), 145.06 (C-2), 122.48 (C-3), 84.69 (C-6), 34.47 (C-4), 32.53 (C-5), 20.67 (C-9), 15.12 (C-1), 12.23 (C-10)。以上数据与文献报道<sup>[10-11]</sup>一致,故鉴定化合物5为反式-(2R, 3S)-2, 3-二甲基-5-亚乙基-2-羟基己二酸。

化合物6: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 125.0541 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 6.93 (1H, s, H-2), 6.82 (1H, d,  $J=7.5$ , H-5), 6.68 (1H, d,  $J=7.5$ , H-4), 1.96 (3H, s, H-1)。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 147.90 (C-6), 145.38 (C-3), 126.58 (C-1), 121.33 (C-5), 115.09 (C-4), 113.66 (C-2), 21.33 (C-7)。以上数据与文献报道<sup>[12]</sup>一致,故鉴定化合物6为2, 5-二羟基甲苯。

化合物7: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 115.0681 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 6.99 (1H, m, H-2), 2.43 (1H, m, H-4), 2.23 (1H, m, H-4), 1.67 (3H, d,  $J=6.3$ , H-5), 0.88 (3H, d,  $J=7.1$ , H-1)。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 167.98 (C-6), 141.03 (C-3), 124.81 (C-2), 28.51 (C-4), 12.66 (C-5), 12.64 (C-1)。以上数据与文献报道<sup>[13]</sup>一致,故鉴定化合物7为2-乙基-2-丁烯酸。

化合物8: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 165.0475 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 7.52 (1H, d,  $J=16$ , H-7), 7.34 (2H, d,  $J=8.5$ , H-2/6), 6.73 (1H, d,  $J=8.5$ , H-3/5), 6.18 (1H, d,  $J=16$ , H-8)。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 169.67 (C-9), 159.76 (C-4), 145.25 (C-7), 129.68 (C-2/6), 125.85 (C-1), 115.42 (C-3/5), 114.40 (C-8)。以上数据与文献报道<sup>[14]</sup>一致,故鉴定化合物8为糠酸。

化合物9: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 165.0521 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 7.49 (2H, d,  $J=8.5$ , H-2/6), 6.72 (1H, d,  $J=12$ , H-7), 6.65 (1H, d,  $J=8.5$ , H-3/5), 5.66 (1H, d,  $J=12$ , H-8)。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 169.62 (C-9), 157.98

(C-4), 142.61 (C-7), 132.23 (C-2/6), 126.36 (C-1), 115.98 (C-8), 114.37 (C-3/5)。以上数据与文献报道<sup>[14]</sup>一致,故鉴定化合物9为反式-4-羟基肉桂酸。

化合物10: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 336.1721 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 6.16 (1H, s, H-2), 5.76 (1H, q,  $J=7.2$ , H-20), 5.35 (1H, d,  $J=11.6$ , H-9), 5.26 (1H, s, H-7), 4.94 (1H, s, H-8), 4.32 (1H, m, H-3), 4.14 (1H, d,  $J=11.6$ , H-9), 3.80 (1H, m, H-3), 3.05 (1H, m, H-5), 2.48 (1H, m, H-6), 2.39 (1H, m, H-6), 2.15 (1H, m, H-14), 1.75 (3H, d,  $J=7.2$ ,  $\text{CH}_3-21$ ), 1.72 (1H, m, H-14), 1.59 (1H, m, H-13), 1.29 (3H, s,  $\text{CH}_3-18$ ), 0.79 (3H, d,  $J=7.4$ ,  $\text{CH}_3-19$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 176.78 (C-11), 166.78 (C-16), 135.46 (C-20), 132.55 (C-2), 132.39 (C-1), 130.66 (C-15), 77.97 (C-8), 76.80 (C-12), 73.43 (C-7), 60.90 (C-3), 57.94 (C-9), 52.82 (C-5), 38.60 (C-13), 37.95 (C-14), 33.71 (C-6), 23.81 (C-18), 13.89 (C-21), 9.74 (C-19)。以上数据与文献报道<sup>[15]</sup>一致,故鉴定化合物10为千里光宁碱。

化合物11: 无定型粉末。ESI-MS( $m/z$ ): 376.1682 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ )。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 6.07 (1H, s, H-2), 5.98 (1H, q,  $J=7.2$ , H-20), 5.30 (1H, s, H-7), 5.21 (1H, s, H-19), 4.97 (1H, s, H-19), 4.65 (1H, d,  $J=11.6$ , H-9), 4.99 (1H, s, H-8), 4.44 (1H, d,  $J=11.6$ , C-9), 4.35 (1H, m, H-3), 3.86 (1H, m, H-3), 3.81 (1H, m, H-5), 3.25 (1H, m, H-14), 3.07 (1H, m, H-5), 2.87 (1H, m, H-14), 2.33 (1H, m, H-6), 1.98 (3H, d,  $J=7.2$ ,  $\text{CH}_3-21$ ), 1.82 (3H, s, H-23), 1.65 (3H, s,  $\text{CH}_3-18$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ : 170.24 (C-11), 169.86 (C-22), 166.20 (C-16), 145.45 (C-13), 137.67 (C-20), 131.46 (C-2), 130.76 (C-1), 130.72 (C-15), 114.97 (C-19), 82.65 (C-12), 77.67 (C-8), 72.86 (C-7), 60.35 (C-3), 58.75 (C-9), 53.35 (C-5), 36.73 (C-14), 33.41 (C-6), 20.65 (C-18), 19.81 (C-21), 14.29 (C-23)。以上的数据与文献报道<sup>[16]</sup>一致,因此鉴定化合物11为乙酰化千里光菲林碱。

## 2 结果与讨论

化合物3为新化合物,无定型粉末。质谱数据给出 $[\text{M}+\text{Na}]^+=279.0841$ ,可确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_6$ ,不饱和度为5。 $^1\text{H}$  NMR谱数据给出3个烯烃氢信号,分别为 $[\delta(\text{H}) 5.98(1\text{H}, \text{d}, J=6.8, \text{H}-2), 5.21(1\text{H}, \text{s}, \text{H}-10), 4.86(1\text{H}, \text{s}, \text{H}-10)]$ ,2个亚甲基氢信号 $[\delta(\text{H}) 3.02(2\text{H}, \text{s}, \text{H}-4)]$ ,9个甲基氢信号 $[\delta(\text{H}) 1.91(3\text{H}, \text{d}, \text{H}-1), 1.62(3\text{H}, \text{s}, \text{H}-9), 1.97(3\text{H},$



s, H-12)]。

$^{13}\text{C}$  NMR谱图显示化合物共12个碳,与高分辨数据对应。 $^{13}\text{C}$  NMR数据给出1个烯烃上的次甲基和亚甲基信号 $\delta(\text{C})$  138.64(C-2)和111.61(C-10),1个亚甲基信号 $\delta(\text{C})$  35.54(C-4),3个甲基信号 $\delta(\text{C})$  20.94(C-12),19.84(C-9),14.55(C-1),3个羰基信号 $\delta(\text{C})$  172.39(C-7),170.04(C-11),169.53(C-8),2个烯烃季碳信号 $\delta(\text{C})$  146.38(C-5)和130.56(C-3),1个季碳信号 $\delta(\text{C})$  82.98(C-6)。

如表1所示,通过结合 $^{13}\text{C}$  NMR和HSQC数据可以更进一步的确定C-H关系: $\delta\text{H}$  5.20(1H, s, H-10),4.86(1H, s, H-10)为末端烯烃双氢,1个孤立的亚甲基信号 $\delta\text{H}$  3.02(2H, s, H-4),1个与次甲基耦合的甲基信号 $\delta\text{H}$  1.91(3H, d,  $J=6.8$ ,  $\text{CH}_3-1$ ),2个甲基信号 $\delta\text{H}$  1.97(1H, s,  $\text{CH}_3-12$ )和1.62(3H, s,  $\text{CH}_3-9$ )。

表 1 化合物3的核磁数据

Tab. 1 NMR spectral data of compound 3

位置	化合物3	
	$\delta(\text{H})$	$\delta(\text{C})$
1	1.91, d(6.8)	14.55( $\text{CH}_3$ )
2	5.98, d(6.8)	138.64(CH)
3	—	130.56(C)
4	3.02, s	35.54( $\text{CH}_2$ )
5	6.97, d(8.8)	146.38(C)
6	—	82.98(C)
7	—	172.39(C)
8	—	169.53(C)
9	1.62, s	20.94( $\text{CH}_3$ )
10	5.02, 4.86, s	111.61( $\text{CH}_2$ )
11	—	170.04(C)
12	1.97, s	19.84( $\text{CH}_3$ )

如图2所示,根据COSY谱可以推断C-2位烯烃与C-1位甲基具有相关性,在HMBC谱中,4-H和5-C、6-C、3-C、8-C以及10-C、2-C、1-C均相关,2-H和1-C、3-C、4-C、5-C、8-C相关,10-H与5-C、6-C、7-C相关,9-H与7-C、6-C、5-C相关,12-H与11-C相关,根据以上分析可以知道该化合物结构与已知化

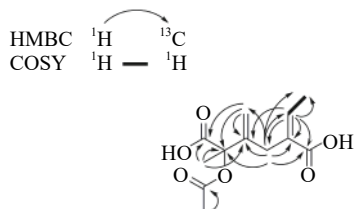


图 2 化合物3的2D-NMR耦合信息

Fig. 2 2D-NMR correlations of compound 3

合物4的骨架相似,可以推测出该化合物的基本碳骨架为 $-\text{CO}-\text{C}-(=\text{CH}-\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{C}(\text{CH}_3, \text{CH}_3\text{COO})-\text{CO}-$ ,再结合该化合物的分子式可以推断该化合物结构。

根据表1, C-2烯烃质子(1H, d,  $J=6.8$  Hz)可推测C-2和C-3之间的烯烃为Z型。根据以上的分析,可以知道该化合物的结构如图3所示,命名为顺式-6-甲基-5-亚甲基-3-亚乙基-6-乙酰氧基己二酸。

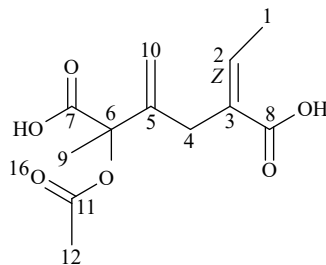


图 3 化合物3结构

Fig. 3 Structure of compound 3

### 3 结论

综合运用多种现代色谱分离纯化技术和波谱鉴定技术,从土田七中分离、鉴定出11个化合物,其中化合物3为新化合物顺式-6-甲基-5-亚甲基-3-亚乙基-6-乙酰氧基己二酸,丰富了土田七植物的化学成分研究,为土田七植物的使用和开发提供参考。

#### 参考文献:

- [1] Li D M, Xu Y C, Zhu G F. Complete chloroplast genome of the plant *Stahlianthus involucratus* (Zin-giberaceae)[J]. *Mitochondrial DNA(Part B)*, 2019, 4(2): 2702-2703.
- [2] Pingsusaen P, Kunanusorn P, Khonsung P, et al. Investigation of anti-inflammatory, anti-nociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 162: 199.
- [3] Li Q M, Luo J G, Zhang Y M, et al. Involucratusones A-C: Unprecedented sesquiterpene dimers containing multiple contiguous quaternary carbons from *Stahlianthus involucratus*[J]. *Chemistry*, 2015, 21(38): 13206-13209.
- [4] Li Q M, Luo J G, Zhang Y M, et al. Cadinane-type sesquiterpenoids from *Stahlianthus involucratus* and their absolute configurations[J]. *Tetrahedron*, 2016, 72(41): 6566-6571.
- [5] Li Q M, Luo J G, Zhao H J, et al. Involudispirones A and B: Sesterterpenes containing a dispiro ring from *Stahlianthus involucratus*[J]. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 2015, 4(12): 1366-1369.
- [6] Li Q M, Luo J G, Wang R Z, et al. Involucratusins A-H: Unusual cadinane dimers from *Stahlianthus involucratus* with

- multidrug resistance reversal activity[J].*Scientific Reports*, 2016,6:29744.
- [7] Chung I M,Kong W S,Lee O K,et al.Cytotoxic chemical constituents from the mushroom of *Pholiota adiposa*[J]. *Food Science and Biotechnology*,2005,14(2):255–258.
- [8] Liu D,Chen E Y.Diesel and alkane fuels from biomass by organocatalysis and metal-acid tandem catalysis[J].*ChemSusChem*,2013,6(12):2236–2239.
- [9] Bohlmann F,Knoll K H,Zdro C,et al.Naturally occurring terpene derivatives.Part 100.Terpene derivative from *Senecio* species[J].*Phytochemistry*,1977,16:965–968.
- [10] Liu Fang,Guo Zhiyong,Cheng Fang,et al.Chemical constituents of roots of *Gynura segetum* (Lour.) Merr[J].*Journal of China Three Gorges University (Natural Sciences)*,2013,35(3):107–109.[刘芳,郭志勇,程凡,等.菊三七根部主要化学成分研究[J].*三峡大学学报(自然科学版)*,2013,35(3):107–109.]
- [11] Zalkow L H,Asibal C F,Glinski J A,et al.Macrocyclic pyrrolizidine alkaloids from *Senecio ananymus*:Separation of a complex alkaloid extract using droplet counter-current chromatography[J].*Journal of Natural Products*,1988,51(4): 690–702.
- [12] Zhou H,Pan Z Q,Luo Q H,et al.Study on the crystal structure of a macrocycle and tyrosinase activity of its dinuclear copper complexes[J].*Chinese Journal of Chemistry*, 2005,23(7):835–842.
- [13] Rosén O,Sandberg F,Lindstedt G.Some new hydantoic acid derivatives[J].*Acta Chemicascan Dinavica*,1950,4(4):687–691.
- [14] Ma H Y,Yang L,Zhang M,et al.A new compound from *Senecio cannabifolius var integrilifolius* [J].*Acta Pharmaceutica Sinica*,2008,43(6):626–629.
- [15] Salum M L,Robles C J,Erra–Balsells R.Photoisomerization of ionic liquid ammonium cinnamates:One-pot synthesis isolation of Z-cinnamic acids[J].*Organic Letters*,2010, 12(21):4808–4811.
- [16] Chizzola R,Bassler G,Kriechbaum M,et al.Pyrrolizidine alkaloid production of *Jacobaea aquatica* under different cutting regimes[J].*Journal of Agricultural and Food chemistry*, 2015,63(4):1293–1299.

(编辑 黄小川)

引用格式: Ma Lifang,Li Yan,Chen Kai,et al.Isolation and identification of chemical constituents from *Stahlianthus involuc-ratus*[J].*Advanced Engineering Sciences*,2021,53(2):158–163.[马丽芳,李燕,陈凯,等.土田七中化学成分分离与鉴定[J].*工程科学与技术*,2021,53(2):158–163.]