

造纸法再造烟叶生产排放废水的化学成分

张东东^{1,2}, 余贺龙¹, 孔宁川^{1*}, 刘晶¹, 王跃虎^{2*}

¹云南中烟工业有限责任公司技术中心, 昆明 650231; ²中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650201

摘要: 采用有机溶剂提取和色谱纯化的方法从造纸法再造烟叶生产排放废水中得到了 4 个化合物, 并通过一维和二维核磁共振、质谱等波谱学手段鉴定了化合物结构, 其中一个新的倍半萜 Nicotianolide (**1**), 一个已知的倍半萜 2 β -Hydroxysolanascone (**2**), 以及两个已知的生物碱即 5,6-二氢-2(1H)-吡啶酮 (**3**) 和可替宁 (**4**)。

关键词: 烟草; 废水; 倍半萜; 生物碱

中图分类号: R284.2; Q946.91

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.1.014

Chemical Constituents in Discharged Wastewater of Paper-Making Reconstituted Tobacco

ZHANG Dong-dong^{1,2}, YU He-long¹, KONG Ning-chuan^{1*}, LIU Jing¹, WANG Yue-hu^{2*}

¹ *Technology Center of China Tobacco Yunnan Industrial CO., Ltd., Kunming 650231, China;* ² *Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China*

Abstract: To clarify chemical constituents in discharged wastewater of paper-making reconstituted tobacco, the discharged wastewater was extracted by ethyl alcohol after electrodialysis desalination and concentration. The extracts were purified by chromatographic techniques, which led to the isolation of four compounds, including one new sesquiterpenoid nicotianolide (**1**), one known sesquiterpenoid 2 β -hydroxysolanascone (**2**), and two known alkaloids 5,6-dihydro-2(1H)-pyridinone (**3**) and cotinine (**4**). Their structures were elucidated by means of spectroscopic methods including 1D and 2D nuclear magnetic resonance (NMR) and mass (MS) spectra.

Key words: Tobacco; wastewater; sesquiterpenoids; alkaloids

制浆和设备清洗是造纸法再造烟叶废水产生的两条主要途径, 富含烟草化学成分的制浆浓白水和设备清洗废水必须经过物理、化学沉降及好氧、厌氧发酵处理达标后才能排放。为了对废水处理效果及排放废水的安全性进行更为科学的评估, 采用柱层析技术从排放废水中分离到 4 个化学成分, 包括一个新的倍半萜内酯成分 Nicotianolide (**1**), 本文报道该化合物的结构解析。

1 仪器与材料

旋光通过 JASCO P-1020 旋光仪 (Jasco Corp., Tokyo, Japan) 测定; 紫外光谱 (UV) 由 Shimadzu UV-2401 PC 紫外分光光度仪 (Shimadzu, Kyoto, Japan) 测定; ECD 谱由 Chirascan 圆二色谱仪 (Applied Pho-

tophysics Ltd., Leatherhead, UK) 测定; 红外光谱 (IR) 用 Bruker Tensor 27 FTIR 红外光谱仪 (Bruker Corp., Ettlingen, Germany) 测定 (KBr 压片); ¹H, ¹³C NMR 和 2D NMR 谱在 DRX-500 或 Avance III-600 核磁共振仪 (Bruker Bio-Spin GmbH, Rheinstetten, Germany) 上测定 (TMS 为内标); ESI-MS 由 API Qstar Pulsar1 质谱仪 (Applied Biosystems/MDS Sciex, Foster City, CA, USA) 测定; HR-EI-MS 由 Waters Auto-Spec Premier p776 三扇型双聚焦磁质谱仪 (Waters, Millford, MA, USA) 测定。柱层析用硅胶 G (80 ~ 100 目, 200 ~ 300 目, 300 ~ 400 目) 或硅胶 H (10 ~ 40 μ m) 及薄层层析板均为青岛海洋化工厂产品; 薄层层析通过 5% 硫酸-乙醇溶液加热观察其斑点; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品; 反相 C-18 硅胶为 Merck 公司产品。

2 提取与分离

经物理、化学沉降及好氧、厌氧生化处理的再造

收稿日期: 2016-07-22 接受日期: 2016-09-29

基金项目: 中国烟草总公司重大专项 (11020140102; zz-02); 云南中烟重大专项 (2015GY01)

* 通讯作者 Tel: 86-015808716802; E-mail: nchong@126.com; wangyuehu@mail.kib.ac.cn

烟叶 (*Nicotiana tabacum* L.) 生产排放废水, 电渗析脱盐处理后, 浓缩高浓度溶液 1.5 L, 用 95% 的乙醇冷浸提取 3 次 (5 L × 3), 滤液浓缩得浸膏 139 g。加入 500 mL 水制成混悬液, 依次用乙酸乙酯 (500 mL × 3), 正丁醇 (500 mL × 3) 萃取, 分别得到 A 部分 10 g 和 B 部分 24 g。

A 部分经 C-18 反相硅胶柱层析, 甲醇-水溶液梯度洗脱, 分成 9 部分 (A₁-A₉)。10% 甲醇洗脱部分 (A₂, 1.28 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱后分为 5 部分 (A_{2,1}-A_{2,5})。A_{2,3} (217.5 mg) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇-二乙胺, 100:1:1) 分为 6 部分 (A_{2,3,1}-A_{2,3,6})。A_{2,3,2} (63.7 mg) 部分经硅胶柱色谱 (乙酸乙酯-甲醇-甲酸, 100:5:1) 分离得到化合物 **4** (13.1 mg)。30% 甲醇洗脱部分 (A₄, 755.7 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱后分为 5 部分 (A_{4,1}-A_{4,5})。A_{4,3} (72.1 mg) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇-甲酸, 100:10:1) 分为 7 部分 (A_{4,3,1}-A_{4,3,7})。A_{4,3,2} (37.5 mg) 经硅胶柱色谱 (石油醚-丙酮, 10:1) 分离得到化合物 **2** (13.2 mg)。

B 部分用经硅胶柱层析, 用氯仿-甲醇梯度洗脱 (10:1→0:1), 分为 8 部分 (B₁-B₈)。氯仿-甲醇 (10:1) 洗脱部分 (B₁, 6.2 g), 经 C-18 反相硅胶柱层析, 甲醇-水溶液梯度洗脱分为 7 部分 (B_{1,1}-B_{1,7})。10% 甲醇洗脱部分 (B_{1,1}, 237.5 mg), 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱后分为 6 部分 (B_{1,1,1}-B_{1,1,6})。B_{1,1,3} (80 mg) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇, 30:1) 分离得到化合物 **3** (14.2 mg)。80% 甲醇洗脱部分 (B_{1,5}, 157.7 mg) 经硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 8:1) 分离得到化合物 **1** (5.0 mg)。

3 结构鉴定

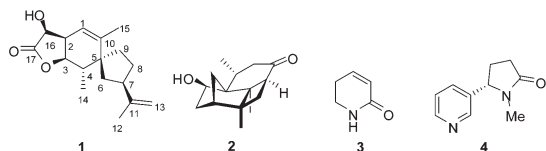


图 1 化合物 1-4 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-4

根据化合物 **1** 高分辨质谱 (HR-EI-MS) 显示的准分子离子峰 m/z 276.1724 [M]⁺ (calcd for C₁₇H₂₄O₃, 276.1725), 推测其分子式为 C₁₇H₂₄O₃, 不饱和度 6。化合物 **1** 的红外光谱显示其分子结构中含有羟基 (3423 cm⁻¹)、酯羰基 (1765 cm⁻¹) 和双键

(1641 cm⁻¹) 等官能团。化合物 **1** 的 NMR 数据 (表 1) 显示该化合物存在 3 个甲基、一个末端双键、一个 3 取代双键、3 个 sp³ 杂化的亚甲基、5 个 sp³ 杂化的次甲基 (其中 2 个连氧)、1 个季碳和一个酯羰基。扣除两个双键和一个羰基占用的不饱和度, 化合物 **1** 应该具有 3 个环系。对比化合物 **1** 跟烟草中发现的 Spirovetivane 型倍半萜的核磁共振 (NMR) 数据^[1], 推测化合物 **1** 为 Spirovetivane 型倍半萜烷基化衍生物。从化合物 **1** 的 ¹H-¹H COSY 相关 (图 2), 可以得到 a 和 b 两个片段。在化合物 **1** 的 HMBC 相关中 (图 2), 可以看到从 H₂-6 到 C-4, H₂-9 到 C-10, H₃-12 到 C-7、C-11 和 C-13, H₃-14 到 C-3、C-4 和 C-5, 以及 H₃-15 到 C-1、C-5 和 C-10 的相关, 结合片段 a 和 b, Spirovetivane 型倍半萜的骨架得以构建起来。通过 16-OH 到 C-17 的相关, 说明烷基化片段 (C-16 和 C-17) 跟 C-2、C-3 及一个氧原子形成了一个五元内酯环, 即为分子的第三个环系。至此, 化合物 **1** 的平面结构得以确定 (图 2)。

化合物 **1** 的相对构型是根据 ROESY 相关确定的。如图 2 所示, 假定 4-Me 为 α 构型, 从 H₃-14 跟 H-2、H-3 和 H-9_α 相关, 说明这些氢处于 α 构型; 从 H-7 与 H-9_α 的相关, 说明 H-7 也处于 α 构型; 从 16-OH 跟 H-1 的相关, 说明 16-OH 处于 β 构型。这样, 化合物 **1** 的相对构型得到确定, 给俗名 Nicotianolide。

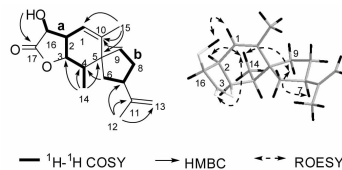


图 2 化合物 **1** 关键的二维 NMR 相关

Fig. 2 Key 2D NMR correlations for compound **1**

已知化合物 2β-Hydroxysolanascone (**2**)^[2]、5,6-二氢-2(1*H*)-吡啶酮 (**3**)^[3] 和可替宁 (**4**)^[4,5] 是通过与文献对比波谱数据而鉴定的。化合物的波谱数据如下:

Nicotianolide (**1**): 无色油状; $[\alpha]_D^{18} = -3.5$ [$c = 0.26$, CHCl₃-MeOH (1:1)]; UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 202 (3.76) nm; ECD $\Delta\epsilon = 4.24$ (202); IR (KBr) ν_{max} 3423, 1765, 1641, 1456, 1383, 1192, 1145, 1032 cm⁻¹; ¹H 和 ¹³C NMR 数据见表 1; ESI-MS m/z 299 [$M + Na$]⁺, 575 [$2M + Na$]⁺; HR-EI-MS m/z 276.1724 [M]⁺ (calcd for C₁₇H₂₄O₃, 276.1725)。

表 1 化合物 1 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据 (δ in ppm, J in Hz)
Table 1 ^1H NMR and ^{13}C NMR data of 1 (δ in ppm, J in Hz)

No.	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
	(DMSO- d_6 , 600 MHz)	(DMSO- d_6 , 150 MHz)	(CDCl $_3$, 500 MHz)	(CDCl $_3$, 125 MHz)
1	5.18 (br s)	114.8, CH	5.25 (br s)	112.2, CH
2	3.02 (m)	37.0, CH	3.18 (m)	37.3, CH
3	4.48 (br t, 3.9)	78.4, CH	4.50 (br t, 4.3)	80.2, CH
4	2.16 (m)	38.0, CH	2.29 (m)	38.7, CH
5		46.1, C		46.6, C
6	2.18 (m) 1.22 (m)	41.5, CH $_2$	2.32 (m) 1.37 (m)	42.0, CH $_2$
7	2.46 (overlapped)	45.8, CH	2.48 (m)	46.5, CH
8	1.71 (m)	30.9, CH $_2$	1.75 (m) 1.52 (m)	31.4, CH $_2$
9 β	1.75 (m)	35.0, CH $_2$	1.82 (m) 1.58 (m)	35.8, CH $_2$
9 α	1.56 (m)			
10		140.2, C		143.3, C
11		147.6, C		147.8, C
12	1.68 (3H, s)	20.6, CH $_3$	1.72 (3H, s)	21.0, CH $_3$
13	4.70 (br s) 4.66 (br s)	109.0, CH $_2$	4.71 (br s) 4.67 (br s)	108.7, CH $_2$
14	0.82 (3H, d, 7.0)	13.0, CH $_3$	0.92 (3H, d, 7.0)	13.3, CH $_3$
15	1.67 (3H, t, 1.5)	20.2, CH $_3$	1.75 (3H, t, 1.4)	20.5, CH $_3$
16	4.58 (dd, 7.9, 6.1)	70.3, CH	4.58 (d, 8.0)	71.6, CH
17		176.2, C		176.5, C
OH	6.00 (d, 6.1)			

2 β -Hydroxysolanascone (2): 无色油状, C $_{15}$ H $_{22}$ O $_2$; $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +7.3$ ($c = 0.11$, CHCl $_3$); ^1H NMR (CDCl $_3$, 500 MHz) δ : 4.02 (1H, br d, $J = 6.5$ Hz), 2.55 (2H, m), 2.49 (1H, dd, $J = 11.9, 6.0$ Hz), 2.09 (2H, m), 2.02 (1H, ddd, $J = 14.0, 6.5, 2.8$ Hz), 1.91 (1H, t, $J = 12.3$ Hz), 1.80 (1H, br d, $J = 11.6$ Hz), 1.74 (1H, d, $J = 4.7$ Hz), 1.51 (1H, dd, $J = 11.8, 1.0$ Hz), 1.29 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.25 (3H, s), 0.97 (3H, s); ^{13}C NMR (CDCl $_3$, 125 MHz) δ : 218.8 (C), 70.0 (CH), 54.2 (C), 49.0 (C), 48.2 (CH), 46.6 (CH $_2$), 45.0 (C), 43.2 (CH), 38.1 (CH $_2$), 36.8 (CH $_2$), 34.5 (CH $_2$), 33.7 (CH), 19.7 (CH $_3$), 18.0 (CH $_3$), 17.6 (CH $_3$); ESI-MS m/z 257 [M + Na] $^+$. 其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据和文献报道一致^[2]。

5,6-二氢-2(1H)-吡啶酮 (3): 浅黄色油状, C $_5$ H $_7$ NO; ^1H NMR (CDCl $_3$, 500 MHz) δ : 6.65 (1H, ddd, $J = 9.9, 4.2, 4.2$ Hz, =CH), 6.21 (1H, br s, NH), 5.90 (1H, m, =CH), 3.42 (2H, m, NCH $_2$), 2.35 (2H, m, CH $_2$); ^{13}C NMR (CDCl $_3$, 125 MHz) δ : 166.6 (C), 141.7 (CH), 124.7 (CH), 39.6

(CH $_2$), 23.9 (CH $_2$); ESI-MS m/z 120 [M + Na] $^+$, 217 [2M + Na] $^+$ 。其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据和文献报道一致^[3]。

可替宁 (Cotinine, 4): 浅黄色油状, C $_{10}$ H $_{12}$ N $_2$ O; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = (21.3$ ($c = 0.65$, CHCl $_3$); ^1H NMR (CDCl $_3$, 500 MHz) δ : 8.58 (1H, dd, $J = 4.7, 1.5$ Hz), 8.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.51 (1H, ddd, $J = 7.8, 1.7, 1.7$ Hz), 7.33 (1H, dd, $J = 7.8, 4.7$ Hz), 4.55 (1H, m), 2.67 (3H, s), 2.52 (3H, m), 1.88 (1H, m); ^{13}C NMR (CDCl $_3$, 125 MHz) δ : 175.5 (C, C-5'), 149.8 (CH, C-2), 148.4 (CH, C-6), 136.6 (C, C-3), 133.8 (CH, C-4), 124.1 (CH, C-5), 62.2 (CH, C-5'), 30.0 (CH $_2$, C-4'), 28.3 (CH $_3$, NMe), 28.3 (CH $_2$, C-3'); ESI-MS m/z 199 [M + Na] $^+$, 375 [2M + Na] $^+$ 。其 ^{13}C NMR 数据和文献报道一致^[4]。

参考文献

- Feng X, Wang JS, Luo J, *et al.* A pair of sesquiterpene glucosides from the leaves of *Nicotiana tabacum*. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12: 252-256.