

from *Salvia limbata* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41 (4): 1143-1147.

[15] Tan N, Kaloga M, Radtke O A, et al. Abietane diterpenoids and triterpenic acids from *Salvia cilicica* and their antileishmanial activities[J]. *Phytochemistry*, 2002, 61 (8): 881-884.

[16] Xu G, Yang J, Wang Y Y, et al. Diterpenoid constituents of the roots of *Salvia digitaloides*[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(23): 12157-12161.

[17] Liu S Z, Zhang J Y, He F M, et al. Anti-inflammatory sesquiterpenoids from the heartwood of *Juniperus formosana* Hayata[J]. *Fitoterapia*, 2020, 157: 105105.

[18] 黄小慧, 张艺凡, 王志彪, 等. 南丹参根化学成分及肿瘤细胞毒活性研究[J]. *中药材*, 2020, 43(6): 1383-1387.

[19] 蔡 莉, 高 燕, 魏玉辉, 等. 河南鼠尾草脂溶性成分研究[J]. *亚太传统医药*, 2009, 5(8): 39-41.

[20] Dang J, Cui Y L, Pei J J, et al. Efficient separation of four antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia Prattii* using non-aqueous hydrophilic solid-phase extraction followed by preparative high-performance liquid chromatography [J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 623.

[21] 王雪晶, 罗 鑫, 周建明, 等. 大株红景天化学成分及其心肌细胞保护活性研究[J]. *中草药*, 2016, 47 (16): 2822-2826.

番荔枝果皮弱极性成分研究 (III)

陈亚运^{1,2}, 陈 欢¹, 阙丽君¹, 吴心怡¹, 高艳云^{2,3*}
(1. 泰州职业技术学院, 江苏 泰州 225300; 2. 江苏省固体制剂工程技术研究中心, 江苏 泰州 225300; 3. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210004)

摘要: **目的** 研究番荔枝 *Annona squamosa* Linn. 果皮弱极性成分。**方法** 番荔枝果皮 95% 乙醇提取物采用硅胶柱进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。**结果** 从中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 16 α -17-acetoxy-18-nor-ent-kaurane-4 β -ol (**1**)、ent-kaurane-16-en-19-ol (**2**)、ent-kuarane-15-en-17-al-18-oic acid (**3**)、ent-kuarane-15-en-17-al-19-oic acid (**4**)、16 α , 17-dihydroxy-ent-kaurane-19-oic acid methyl ester (**5**)、16 α -ent-kaurane-17-ol (**6**)。**结论** 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3~6** 均为首次从番荔枝果皮中分离得到。
关键词: 番荔枝; 果皮; 分离鉴定; 弱极性成分
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2023)06-1883-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.023

Weak polar constituents from the pericarps of *Annona squamosa* (III)

CHEN Ya-yun^{1,2}, CHEN Huan¹, QUE Li-jun¹, WU Xin-yi¹, GAO Yan-yun^{2,3*}
(1. Taizhou Polytechnic College, Taizhou 225300, China; 2. Jiangsu Engineering Technology Research Center of Solid Preparation, Taizhou 225300, China; 3. Affiliated Hospital to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210004, China)

ABSTRACT: AIM To study the weak polar constituents from the pericarps of *Annona squamosa* Linn..
METHODS The 95% ethanol extract from the pericarps of *A. squamosa* was isolated and purified by silica gel column, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data.
RESULTS Six compounds were isolated and identified as 16 α -17-acetoxy-18-nor-ent-kaurane-4 β -ol (**1**), ent-kaurane-16-en-19-ol (**2**), ent-kuarane-15-en-17-al-18-oic acid (**3**), ent-kuarane-15-en-17-al-19-oic acid (**4**), 16 α , 17-dihydroxy-ent-kaurane-19-oic acid methyl ester (**5**), 16 α -ent-kaurane-17-ol (**6**).
CONCLUSION

收稿日期: 2022-04-19
基金项目: 泰州市科技局项目 (2020); 泰州市“凤城英才”托举工程项目 (2021); 江苏省中医院科研项目 (2022); 江苏省“青蓝工程”资助项目 (2022); 泰州职业技术学院科研项目 (2022)
作者简介: 陈亚运 (1990—), 男, 博士, 讲师, 研究方向为中药活性物质基础。Tel: 19951454579, E-mail: ceyaun@163.com
* **通信作者:** 高艳云 (1986—), 女, 副主任中药师, 研究方向为中药活性物质基础。Tel: 13912945891, E-mail: gaoyanyun45@163.com

Compound **1** is a new compound. Compounds **3**–**6** are isolated from the pericarps of *A. squamosa* for the first time.

KEY WORDS: *Annona squamosa* Linn.; pericarps; isolation and identification; weak polar constituents

热带水果番荔枝 *Annona squamosa* Linn. 为番荔枝科番荔枝属植物, 因外形酷似“荔枝”而得名。番荔枝原产于美洲, 我国引种后, 在台湾、海南、云南、广西、广东、福建等地均有种植。研究发现, 番荔枝果实可治恶疮肿痛^[1]。从 20 世纪 70 年代开始, 有关番荔枝的现代研究越来越多, 其种子因含有内酯类成分而对多种肿瘤细胞具有杀伤作用^[2-6]。但同为果实组成部分的果皮一直少有研究。有文献报道番荔枝果皮甲醇提取物具有抗肿瘤活性且以活性为导向从番荔枝果皮中分离出 2 种二萜类成分^[7-8]。课题组前期已对番荔枝果皮进行了抗肿瘤活性验证, 也从中分离得到了大量二萜类成分^[9-14]。为了继续挖掘番荔枝果皮抗肿瘤的物质基础, 本研究对番荔枝果皮化学成分进行分离, 从中得到 6 个化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3**~**6** 均为首次从番荔枝果皮中分离得到。

1 材料

ZNHW-1000 型电热套 (巩义市予华仪器有限公司); SAGA-10TQ 型纯水仪 (南京易普易达科技发展有限公司); DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); RE-52A 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-III 型循环水式真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); BP211D 型电子分析天平 (德国 Sartorius 公司); ZF-1 型三用紫外分析仪 (上海舒源分析仪器厂); Affinity-1S 型傅立叶变换红外光谱仪 (日本 Shimadzu 公司); UV-1800PC-DS2 型紫外可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司); Xevo G2-XS 型 Q-TOF 高分辨液质联用仪 (美国 Waters 公司); AV-400MHz 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司)。

柱层析硅胶 (100~200 目、200~300 目)、TLC 硅胶 G 薄层板 (青岛海洋化工有限公司)。95% 乙醇、石油醚 (分析纯)、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇 (广东光华科技股份有限公司); 氘代试剂 (DMSO-*d*₆、CDCl₃, 美国剑桥公司)。

番荔枝果实于 2016 年 10 月购自云南省临沧市秀川生物科技公司, 经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定为番荔枝科番荔枝属番荔枝 *Annona*

squamosa Linn. 的成熟果实, 果皮经人工剥离风干备用 (留样编号 20161025zh)。

2 提取与分离

取 8 kg 番荔枝果皮粉碎成粗粉, 充分润湿后转移至渗漉筒中, 用 10 倍量 95% 乙醇在室温下渗漉提取 3 次, 合并提取液, 减压浓缩后得浸膏 400 g, 乙酸乙酯溶解, 100 目硅胶拌样并干燥成细粉, 200~300 目硅胶柱色谱分离, 石油醚-乙酸乙酯 (1:0、50:1、25:1、10:1、5:1、2:1、1:1、1:2、1:5、0:1)、乙酸乙酯-甲醇 (100:1、50:1、10:1、0:1) 洗脱, 每 1 L 为 1 个流分, 硅胶薄层色谱追踪并合并相同流分, 共得到 15 个部位段 Fr. 1~Fr. 15。Fr. 5 经干法拌样后装入硅胶柱, 石油醚-丙酮 (50:1~1:1) 洗脱, 得 Fr. 5-1~Fr. 5-5。合并 Fr. 5-1 和 Fr. 5-2, 石油醚-丙酮 (100:1~20:1) 梯度洗脱, 得化合物 **1** (3.9 mg)、**6** (3.7 mg)。Fr. 5-4 经拌样后装入硅胶柱, 石油醚-丙酮 (20:1~2:1) 梯度洗脱, 得化合物 **2** (8.1 mg)、**5** (11.5 mg), Fr. 5-4 分为 20 段, 其中 Fr. 5-4-20 经硅胶柱色谱 (400 目), 石油醚-丙酮 (10:1~5:1) 梯度洗脱, 得化合物 **3** (13.3 mg)、**4** (16.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色油状物, 易溶于二氯甲烷。UV 光谱未见明显吸收峰, IR 光谱中 1 250、1 750 cm⁻¹ 附近存在强吸收峰, 表明结构中有酯基存在; 2 950~2 800 cm⁻¹ 吸收峰为 CH₂ 片段; 又可见 3 500~3 200、1 000 cm⁻¹ 左右的吸收峰, 表明结构中有 OH 存在。HR-ESI-MS *m/z*: 335.259 1 [M+H]⁺, 分子式 C₂₁H₃₄O₃, 不饱和度 5。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 显示有 3 个甲基 δ_H 0.98 (s, 3H, H-20), 1.13 (s, 3H, H-19), 2.06 (s, 3H, H-1')。结合 ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) 和 HSQC 可确认有 21 个碳信号, 包括 3 个甲基, 9 个亚甲基, 4 个次甲基、5 个季碳 (表 1)。结合文献可知该化合物可能为对映-贝壳杉烷型二萜类化合物。由 HMBC 谱中 C-3 (δ_H 1.33)、C-5 (δ_H 1.09)、C-19 (δ_H 1.13) 与 C-4 (δ_C 72.4) 的相关可以推断出 OH 位于 C-4 上 (图 1); C-17 (δ_H 4.18)、C-1' (δ_H 2.06) 对 C-2' (δ_C 171.4) 的相关可以推断出 CH₂OCOCH₃ 的存在; C-13 (δ_H 2.28)、C-15 (δ_H

1.13) 对 C-17 (δ_{C} 66.0) 的相关可以推断出 $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$ 位于 C-16 上。同样, 根据 HMBC 谱中其他数据间的相关可对化合物各碳的数值进行归属, 具体数值见表 1。从 NOESY 谱中可知, H-19 (δ_{H} 1.13) 与 H-20 (δ_{H} 0.98) 相关, 则 C-4 位的 CH_3 在平面下方, 所以 C-4 位的 OH 在平面上方, 为 β 型; H-16 (δ_{H} 1.55) 与 H-13 (δ_{H} 2.28)、H-14 (δ_{H} 2.18) 相关, H-17 (δ_{H} 4.18) 与 H-12 (δ_{H} 1.55) 相关, 表明 H-16 在平面下, 为 α 构型。综上所述, 化合物 1 鉴定为 16 α -17-acetoxy-18-nor-ent-kaurane-4 β -ol, 经 SciFinder 数据库系统检索, 该化合物为新化合物。

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR 波谱数据
Tab. 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopic data on compound 1

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
C-1	$\text{CH}_2, 0.81, \text{m}, 1.77, \text{dr}$	39.6	C-12	$\text{CH}_2, 1.55, \text{m}$	26.0
C-2	$\text{CH}_2, 1.55, \text{m}$	19.0	C-13	$\text{CH}, 2.28, \text{m}$	39.0
C-3	$\text{CH}_2, 1.33, \text{m}, 1.78, \text{dr}$	42.8	C-14	$\text{CH}_2, 1.01, 2.18, \text{m}$	37.4
C-4	—	72.4	C-15	$\text{CH}_2, 1.13, 1.62, \text{m}$	43.9
C-5	$\text{CH}, 1.09, \text{dr}$	56.9	C-16	$\text{CH}, 1.55, \text{m}$	41.3
C-6	$\text{CH}_2, 1.32, 1.79, \text{m}$	19.4	C-17	$\text{CH}_2, 4.18, \text{q}$	66.0
C-7	$\text{CH}_2, 1.04, 2.01, \text{m}$	40.4	C-18	—	—
C-8	—	44.2	C-19	$\text{CH}_3, 1.13, \text{s}$	22.9
C-9	$\text{CH}, 1.33, \text{m}$	57.6	C-20	$\text{CH}_3, 0.98, \text{s}$	17.2
C-10	—	39.9	C-2'	—	171.4
C-11	$\text{CH}_2, 1.56, \text{m}$	19.6	C-1'	$\text{CH}_3, 2.06, \text{s}$	21.0

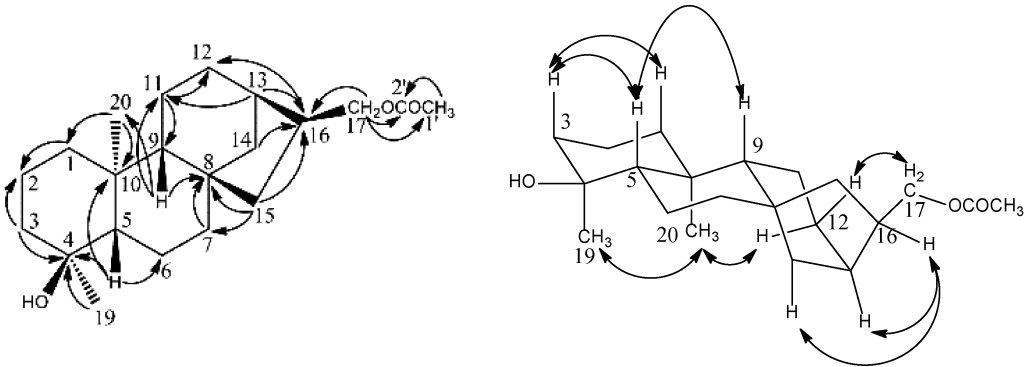


图 1 化合物 1 HMBC 和 NOESY 相关
Fig. 1 HMBC and NOESY correlations of compound 1

化合物 2: 无色针晶, 易溶于二氯甲烷, 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$, ESI-MS m/z : 287.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.01 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 40.5 (C-1), 18.3 (C-2), 35.6 (C-3), 38.7 (C-4), 56.2 (C-5), 20.5 (C-6), 41.6 (C-7), 44.2 (C-8), 56.8 (C-9), 39.2 (C-10), 18.2 (C-11), 33.2 (C-12), 44.0 (C-13), 39.7 (C-14), 49.1 (C-15), 155.9 (C-16), 103.0 (C-17), 27.1 (C-18), 65.5 (C-19), 18.1 (C-20)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 ent-kaurane-16-en-19-ol。

化合物 3: 白色粉末, 易溶于甲醇, 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 317.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.73 (1H, s, H-17), 6.60 (1H, s, H-15), 4.55 (1H, s, 16-OH), 1.25 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 40.7 (C-1), 19.0 (C-2), 37.8 (C-3), 43.8 (C-4), 56.6 (C-5), 20.3 (C-6), 43.1 (C-7), 51.0 (C-8), 45.8 (C-

9), 38.2 (C-10), 18.7 (C-11), 25.1 (C-12), 37.8 (C-13), 40.1 (C-14), 161.8 (C-15), 148.6 (C-16), 189.6 (C-17), 184.0 (C-18), 28.9 (C-19), 15.5 (C-20)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为 ent-kuarane-15-en-17-al-18-oic acid。

化合物 4: 淡黄色油状物, 易溶于甲醇, 分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$, ESI-MS m/z : 315.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.03 (1H, s, H-19), 9.70 (1H, s, H-17), 6.81 (1H, s, H-15), 1.13 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 39.9 (C-1), 19.2 (C-2), 37.7 (C-3), 43.3 (C-4), 55.9 (C-5), 20.5 (C-6), 42.9 (C-7), 50.9 (C-8), 45.4 (C-9), 38.0 (C-10), 18.7 (C-11), 25.3 (C-12), 37.7 (C-13), 37.9 (C-14), 162.2 (C-15), 148.1 (C-16), 190.1 (C-17), 29.0 (C-18), 178.9 (C-19), 15.7 (C-20)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为 ent-kuarane-15-en-17-al-19-oic acid。

化合物 **5**: 白色粉末, 易溶于二氯甲烷, 分子式 $C_{21}H_{34}O_4$, ESI-MS m/z : 351.3 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.65 (3H, s, $COOCH_3$), 1.17 (3H, s, H-18), 0.85 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 40.6 (C-1), 19.0 (C-2), 38.1 (C-3), 43.8 (C-4), 56.9 (C-5), 19.1 (C-6), 40.7 (C-7), 43.5 (C-8), 56.0 (C-9), 39.5 (C-10), 21.6 (C-11), 26.7 (C-12), 41.9 (C-13), 38.2 (C-14), 52.4 (C-15), 79.9 (C-16), 69.8 (C-17), 28.8 (C-18), 178.1 (C-19), 15.3 (C-20), 51.7 (C-1')。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为 16 α , 17-dihydroxy-ent-kaurane-19-oic acid methyl ester。

化合物 **6**: 白色粉末, 易溶于二氯甲烷, 分子式 $C_{20}H_{34}O$, ESI-MS m/z : 291.2 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.93 (6H, s, H-18, H-19), 0.81 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.8 (C-1), 18.1 (C-2), 41.2 (C-3), 30.4 (C-4), 55.2 (C-5), 19.1 (C-6), 40.7 (C-7), 43.2 (C-8), 54.3 (C-9), 36.6 (C-10), 20.6 (C-11), 26.1 (C-12), 38.8 (C-13), 37.1 (C-14), 44.0 (C-15), 44.0 (C-16), 64.2 (C-17), 21.3 (C-18), 22.7 (C-18), 15.4 (C-20)。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为 16 α -ent-kaurane-17-ol。

4 结论

本研究从番荔枝果皮中分离得到 6 个对映-贝壳杉烷型二萜, 包含 1 个新化合物, 并有 4 个化合物为首次从番荔枝果皮中分离得到, 丰富了番荔枝果皮的物质基础。后期, 课题组将基于番荔枝果皮的抗肿瘤活性, 开展系列二萜化合物抗肿瘤的构效关系研究, 以期探索二萜抗肿瘤活性, 阐明其抗肿瘤机制奠定基础。

参考文献:

[1] 中国科学院《中国植物志》委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 171.

[2] Miao Y J, Xu X F, Yuan F, *et al.* Four cytotoxic annonaceous acetogenins from the seeds of *Annona squamosa* [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(11): 1273-1279.

[3] 施叶叶, 苗筠杰, 陈亚运, 等. 番荔枝内酯类化合物对耐

紫杉醇肺癌细胞 A549/Taxol 的体外活性研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(10): 1884-1888.

[4] Chen Y, Chen J W, Li X. Cytotoxic bistetrahydrofuran annonaceous acetogenins from the seeds of *Annona squamosa* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(11): 2477-2481.

[5] 袁 斐, 白钢钢, 苗筠杰, 等. 番荔枝内酯类化合物对耐阿霉素乳腺癌细胞 MCF-7/ADR 体外活性的影响[J]. 中草药, 2014, 45(19): 2815-2819.

[6] 卢佳慧, 李 月, 李 祥, 等. 番荔枝子中番荔枝内酯类化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 49(10): 2353-2358.

[7] Joy B, Remani P. Antitumor constituents from *Annona squamosa* fruit pericarp[J]. *Med Chem Res*, 2008, 17(2-7): 345-355.

[8] Shehata M G, Abu-Serie M M, El-Aziz N M A, *et al.* Nutritional, phytochemical, and *in vitro* anticancer potential of sugar apple (*Annona squamosa*) fruits[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6224.

[9] 陈亚运, 白钢钢, 陈 勇, 等. 番荔枝果皮小极性成分研究[J]. 中药材, 2015, 38(7): 1430-1432.

[10] 陈亚运, 陈建伟, 李 祥. 番荔枝果皮小极性成分研究(II) [J]. 中药材, 2019, 42(6): 1292-1296.

[11] Chen Y Y, Cao Y Z, Li F Q, *et al.* Studies on anti-hepatoma activity of *Annona squamosa* L. pericarp extract[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(9): 1907-1910.

[12] Chen Y Y, Ma C Y, Wang M L, *et al.* Five new ent-kaurane diterpenes from *Annona squamosa* L. pericarps [J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(15): 2243-2247.

[13] Chen Y Y, Peng C X, Hu Y, *et al.* Studies on chemical constituents and anti-hepatoma effects of essential oil from *Annona squamosa* L. pericarps [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(11): 1305-1308.

[14] Chen Y Y, Li F Q, Zhu X L, *et al.* Chemical composition and anti-hepatoma effect of *Annona squamosa* L. pericarp oil [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(1): 401-404.

[15] Fatope M O, Varma G B, Alzri N M, *et al.* ent-Kaurene diterpenoids from *Blepharispermum hirtum* [J]. *Chem Biodivers*, 2010, 7(7): 1862-1870.

[16] Harrigan G G, Bolzani V D S, Gunatilaka A A L, *et al.* Kaurane and trachylobane diterpenes from *Xylopia aethiopica* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(1): 109-113.

[17] Delgado G, Cárdenas H, Peláez G, *et al.* Terpenoids from *Viguiera excelsa* and *Viguiera oaxacana* [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47(6): 1042-1045.

[18] Vieira H S, Takahashi J A, Pimenta L P, *et al.* Effects of kaurane diterpene derivatives on germination and growth of *Lactuca sativa* seedlings[J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2005, 60(1-2): 72-78.