

• 化学成分 •

青花椒中酚类化学成分及其抗氧化活性

孟宪华¹, 尚贤毅², 杨军丽^{1*}

1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室, 甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000

2. 陇南市富民产业发展有限公司, 甘肃 陇南 746000

摘要: 目的 研究青花椒 *Zanthoxylum schinifolium* 抗氧化活性物质基础。方法 利用柱色谱和高效液相色谱等现代分离技术和 NMR、HR-ESI-MS 等结构鉴定技术, 分离纯化并分析鉴定青花椒抗氧化活性物质; 利用 ABTS⁺ 自由基清除的活性筛选技术, 对活性部位和单体化合物进行抗氧化活性评价。结果 从具有抗氧化活性的 D101 大孔吸附树脂 60% 乙醇洗脱部位中分离得到 12 个多酚糖苷类化合物, 分别鉴定为青花椒酚 A (1)、青花椒酚 B (2)、3,4-二羟基苯乙醇 (3)、熊果苷 (4)、蓖麻酚糖苷 (5)、苄醇葡萄糖苷 (6)、1-*O*-β-*D*-葡萄糖基-4-烯丙基苯 (7)、1,2-二羟基苯乙醇-1-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (8)、2-甲氧基苯乙醇-1-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (9)、2,6-二甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚-1-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (10)、2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯基-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (11)、紫丁香苷 (12)。利用 ABTS⁺ 自由基清除的活性筛选技术, 发现化合物 3~5、8 和 9 具有较好的抗氧化活性, 其中化合物 4 的 IC₅₀ 为 4.5 μmol/L, 与阳性对照维生素 C (V_C) 相当。结论 从青花椒抗氧化活性部位分离鉴定了 2 个新化合物 (1、2), 分别命名为青花椒酚 A 和青花椒酚 B, 化合物 3、5~8、10 和 11 均首次从花椒属植物中分离得到, 化合物 4 首次从青花椒中分离得到, 熊果苷 (4) 的抗氧化活性与 V_C 相当。

关键词: 青花椒; 芸香科; 酚苷类化合物; 抗氧化; 青花椒酚 A; 青花椒酚 B; 3,4-二羟基苯乙醇; 蓖麻酚糖苷; 熊果苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)08-2095-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.015

Phenolic chemical constituents of *Zanthoxylum schinifolium* pericarps and their anti-oxidative effectsMENG Xian-hua¹, SHANG Xian-yi², YANG Jun-li¹

1. CAS Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics (LICP), Chinese Academy of Sciences (CAS), Lanzhou 730000, China

2. Longnan Municipal Enrich People Industry Development Co., Ltd., Longnan 746000, China

Abstract: **Objective** To study antioxidant substances of *Zanthoxylum schinifolium* pericarps. **Methods** A variety of column chromatography and high performance liquid chromatography (HPLC) were used for separation and purification, and the structures of the compounds were identified by NMR, HR-ESI-MS, and so on. The activity guided fractionation was used to evaluate the antioxidant activity of isolates using ABTS⁺ radical-scavenging method. **Results** Twelve compounds schiniphenol A (1), schiniphenol B (2), 3,4-dihydroxyphenylethanol (3), arbutin (4), orcinol glucoside (5), benzyl alcohol glucoside (6), 1-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-4-allylbenzene (7), 1,2-dihydroxyphenethyl-alcohol-1-*O*-β-*D*-glucopyranoside (8), 2-methoxyphenethyl-alcohol-1-*O*-β-*D*-glucopyranoside (9), 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol-1-*O*-β-*D*-glucopyranoside (10), 2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenyl-β-*D*-glucopyranoside (11), syringin (12) were isolated and determined. ABTS⁺ radical-scavenging activity showed that compounds 3—5, 8, and 9 had good antioxidant activity. The IC₅₀ of arbutin (4) was 4.5 μmol/L, which was equivalent to that of positive control vitamin C (V_C, IC₅₀ = 6.4 μmol/L). **Conclusion** Isolates 1 and 2 are new compounds, and named schiniphenol A and schiniphenol B, respectively. Moreover, compounds 3, 5—8, 10, and 11 are isolated from the genus *Zanthoxylum* for the first time, and compound 4 is

收稿日期: 2019-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81673325); 甘肃省重点研发计划国际科技合作专项 (18YF1WA127); 中国科学院百人计划人才项目

作者简介: 孟宪华, 男, 博士, 助理研究员, 从事天然药物化学成分和药理活性研究。E-mail: mengxianhua@licp.cas.cn

*通信作者 杨军丽, 博士生导师, 研究员, 从事中草药活性成分和新药研究。Tel/Fax: (0931)4968385 E-mail: yangjl@licp.cas.cn

isolated from *Z. schinifolium* for the first time. Arbutin (**4**) showed comparable antioxidant activity to that of V_C .

Key words: *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc.; Rutaceae; phenolic glycoside; antioxidant activity; schiniphenol A; schiniphenol B; 3,4-dihydroxyphenylethanol; orcinol glucoside; arbutin

青花椒为芸香科 (Rutaceae) 花椒属植物青花椒 *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. 的果皮, 云南昭通、陕西韩城、四川汉源是我国青花椒 3 大集散地^[1]。青花椒具有独特的浓烈香气, 在我国主要用作食品调味香辛料^[2]。青花椒含有香豆素、生物碱、三萜、类固醇、脂肪族酰胺和木脂素等化学成分^[3], 具有促进唾液分泌、增加食欲、促进血管扩张、抗炎、调血脂^[1-2]、抗血小板聚集^[4]、抗惊厥、抗高血压、抗氧化^[5]、抑制单胺氧化酶^[6]和抗肿瘤^[7]等生物活性。

本实验对青花椒 70%乙醇提取物进行了研究, 发现了 D101 大孔吸附树脂 60%乙醇洗脱部位具有最强的抗氧化活性, 并对其化学成分进行了研究, 分离鉴定了 2 个新化合物, 分别命名为青花椒酚 A (schiniphenol A, **1**) 和青花椒酚 B (schiniphenol B, **2**), 以及 10 个已知的多酚糖苷类化合物, 分别鉴定为 3,4-二羟基苯乙醇 (3,4-dihydroxyphenyl-ethanol, **3**)、熊果苷 (arbutin, **4**)、蓖麻酚糖苷 (orcinol

glucoside, **5**)、苄醇葡萄糖苷 (benzyl alcohol glucoside, **6**)、1- O - β -D-葡萄糖基-4-烯丙基苯 (1- O - β -D-glucopyranosyl-4-allylbenzene, **7**)、1,2-二羟基苯乙醇-1- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 (1,2-dihydroxyphenethyl-alcohol-1- O - β -D-glucopyranoside, **8**)、2-甲氧基苯乙醇-1- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 (2-methoxyphenethyl-alcohol-1- O - β -D-glucopyranoside, **9**)、2,6-二甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚-1- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 [2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol-1- O - β -D-glucopyranoside, **10**]、2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷 [2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenyl- β -D-glucopyranoside, **11**]、紫丁香苷 (syringin, **12**)。化合物结构见图 1。其中, 化合物 **3**、**5**~**8**、**10** 和 **11** 均首次从花椒属植物中分离得到, 化合物 **4** 首次从青花椒中分离得到。利用 ABTS⁺自由基清除活性筛选技术, 对上述化合物进行抗氧化活性测试, 发现化合物 **3**~**5**、**8** 和 **9** 具有较好的抗氧化活性, 其中化合物 **4** 表现出与阳性对照维生素 C (V_C) 相当的活性。

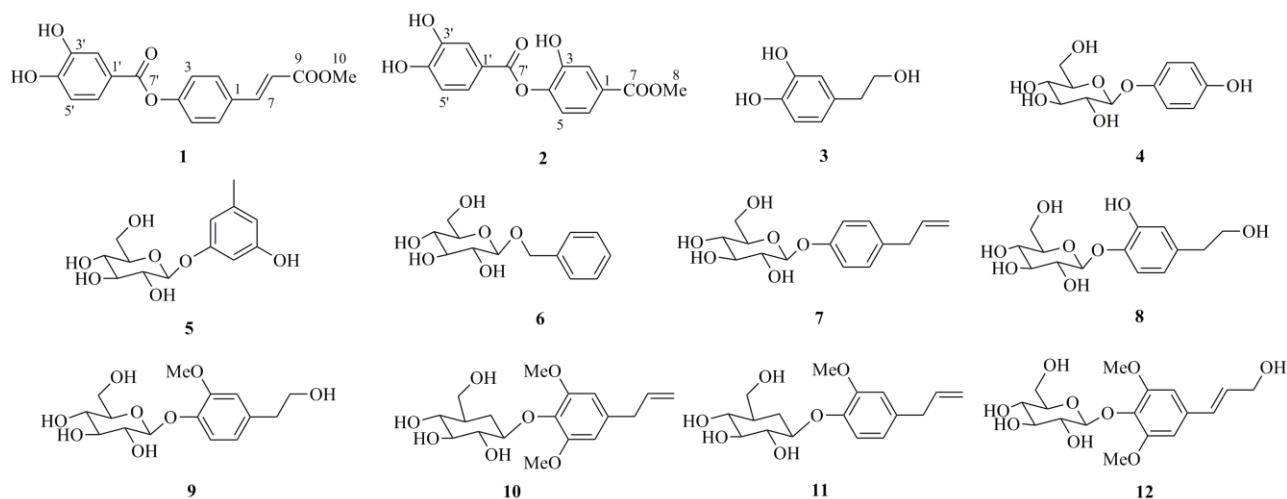


图 1 青花椒化合物 1~12 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—12 isolated from *Z. schinifolium*

1 仪器与材料

Bruker Avance III-400 核磁共振仪、Bruker microTOF-Q II 高分辨质谱仪 (美国 Bruker 公司); IP-digi300/2 旋光仪 (上海仪迈仪器科技有限公司); 高效液相色谱仪 (江苏汉邦科技有限公司、北京慧德易科技有限责任公司、北京创新通恒科技有限公司); 柱色谱和薄层色谱硅胶 (GF₂₅₄) (青岛海洋化

工厂); MCI 和 Sephadex LH-20 (YMC, 日本); D101 大孔吸附树脂 (西安蓝晓科技新材料股份有限公司)。

青花椒于 2016 年采自于甘肃省陇南市, 由中国科学院兰州化学物理研究所戚欢阳副研究员鉴定为青花椒 *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. 的果皮。样品 (QHJ-201602) 保存于中科院西北特色植

物资源化学重点实验室。

2 提取与分离

取干燥、粉碎的青花椒果皮 (3.5 kg), 加 10 倍量 70%乙醇在室温下提取 3 次, 每次 3 d, 滤过, 滤液减压浓缩至无醇味。浸膏加水混匀后过 D101 大孔吸附树脂 (1.5 kg) 开口柱, 分别用水 (5 L)、30%乙醇 (5 L)、60%乙醇 (5 L)、80%乙醇 (5 L)、95%乙醇 (5 L) 洗脱, 得到 5 个组分 (A~E)。利用 ABTS⁺自由基清除的活性筛选技术, 发现 60%乙醇洗脱部位 (C) 具有最强的抗氧化活性。

取 60%乙醇洗脱部位 (C, 130 g), 经硅胶柱色谱 (200~300 目, 600 g), 以二氯甲烷-甲醇 (30:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 10 个组分 (C1~C10)。C2 (216 mg) 用制备 HPLC (20%甲醇-水洗脱, 体积流量 10 mL/min) 分离得到 4 个组分 (C2-1~C2-4)。其中 C2-1 进一步用半制备 HPLC (12%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 4 (100.0 mg, $t_R=8.7$ min)。C2-2 和 C2-4 分别用半制备 HPLC 分离得到化合物 6 (10%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min, 5.0 mg, $t_R=16.9$ min) 和 5 (15%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min, 19.0 mg, $t_R=10.1$ min)。C4 (155 mg) 用 MCI 柱色谱 (50%甲醇-水洗脱) 得到 6 个组分 (C4-1~C4-6)。C4-5 和 C4-6 分别用半制备 HPLC (40%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 11 (16.0 mg, $t_R=9.0$ min) 和 10 (10.0 mg, $t_R=18.3$ min)。C5 (247 mg) 通过 Sephadex LH-20 柱色谱 (50%甲醇-水洗脱) 分段得到 6 个组分 (C5-1~C5-6)。其中 C5-3 和 C5-4 分别用半制备 HPLC (40%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 1 (15.0 mg, $t_R=7.8$ min) 和 2 (2.0 mg, $t_R=19.6$ min)。C6 (92 mg) 用半制备 HPLC (30%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 12 (18.0 mg, $t_R=15.4$ min)。C7 (316 mg) 用硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (10:1→1:1) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 (C7-1~C7-8)。其中 C7-2 进一步用半制备 HPLC (9%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 9 (9.0 mg, $t_R=30.3$ min)。C7-3 用 PR-18 反相硅胶柱色谱分离, 用 70%甲醇-水洗脱得到 4 个组分 (C7-3-1~C7-3-4), 其中 C7-3-1 用半制备 HPLC (10%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 8 (2.0 mg, $t_R=9.0$ min)。另外, 组分 C7-6 通过制备 HPLC (45%甲醇-水洗脱, 体积流量 10

mL/min) 分离得到化合物 7 (4.0 mg, $t_R=20.6$ min)。C8 (286 mg) 用 MCI 柱色谱分离, 用甲醇-水 (3:7→1:1) 梯度洗脱, 然后用半制备 HPLC (20%甲醇-水洗脱, 体积流量 4 mL/min) 纯化得化合物 3 (20.5 mg, $t_R=9.2$ min)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色针状晶体 (甲醇); HR-ESI-MS 谱给出准分子离子峰 m/z : 337.067 6 $[M+Na]^+$ (计算值为 337.068 3), 确定化合物 1 的分子式为 $C_{17}H_{14}O_6$ 。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 224 (2.56), 275 (1.49) nm; IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 318, 2 918, 1 647, 1 613, 1 586, 1 505, 1 448 和 1 384, 显示结构中存在羟基、酯基和苯环。

NMR 谱 (表 1) 低场区显示对氧取代的苯环 δ_H 7.39 (2H, d, $J=8.4$ Hz), 7.82 (2H, d, $J=8.4$ Hz) 和 δ_C 133.5, 130.4 (2C), 123.6 (2C), 152.9; 1 对反式双键 δ_H 7.72 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 6.59 (1H, d, $J=16.0$ Hz) 和 δ_C 144.3, 119.2; 1 个酯基 δ_C 167.5; 1 个甲氧基 δ_H 3.77 (3H, s) 和 δ_C 51.9, 表明结构中存在 4-*O*-肉桂酸甲酯基团。同时, 在 HMBC 谱 (图 2) 中, H-2 (δ_H 7.82) 与 C-4 (δ_C 152.9)、C-6 (δ_C 130.4) 和 C-7 (δ_C 144.3) 相关, H-3 (δ_H 7.39) 与 C-1 (δ_C 133.5)、C-4 和 C-5 (δ_C 123.6) 相关, H-5 (δ_H 7.39) 与 C-1、C-4 和 C-3 (δ_C 123.6) 相关, H-6 (δ_H 7.82) 与 C-4、C-2 (δ_C 130.4) 和 C-7 相关, H-7 (δ_H 7.72) 与 C-2、C-6、C-8 (δ_C 119.2) 和 C-9 (δ_C 167.5) 相关, H-8 (δ_H 6.59) 和 C-1、C-9 相关, OCH_3 (δ_H 3.77) 和 C-9 相关, 确证了 4-*O*-肉桂酸甲酯基团的存在。另外, NMR 谱 (表 1) 低场区显示 ABX 取代的苯环: δ_H 6.46 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 7.96 (1H, d, $J=8.4$ Hz) 和 6.56 (1H, dd, $J=2.0, 8.4$ Hz) 和 δ_C 103.6, 103.5, 165.4, 104.8, 133.3, 109.6 和 166.0, 表明结构中存在 3,4-二羟基苯甲酰基。

在 HMBC 谱 (图 2) 中, H-2' (δ_H 6.46) 与 C-7' (δ_C 166.0)、C-4' (δ_C 104.8) 和 C-6' (δ_C 109.6) 相关, H-5' (δ_H 7.96) 与 C-1' (δ_C 103.6) 和 C-3' (δ_C 165.4) 相关, H-6' (δ_H 6.56) 与 C-7'、C-2' (δ_C 103.5) 和 C-4' 相关, 确证了 3',4'-二羟基苯甲酰基的存在。由此, 确定化合物 1 的结构为 4-*O*-(3',4'-二羟基苯甲酰基)-肉桂酸甲酯。经检索, 为 1 个新化合物, 命名为青花椒酚 A。

化合物 2: 无色针状晶体 (甲醇); HR-ESI-MS 谱给出准分子离子峰 m/z : 327.048 1 $[M+Na]^+$ (计

表 1 化合物 1 和 2 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (400/100 MHz, CDCl_3)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data for compounds 1 and 2 (400/100 MHz, CDCl_3)

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		133.5 (C)		111.3 (C)
2	7.82 (d, $J = 8.4$ Hz)	130.4 (CH)	6.97 (d, $J = 2.4$ Hz)	111.7 (CH)
3	7.49 (d, $J = 8.4$ Hz)	123.6 (CH)		157.0 (CH)
4		152.9 (C)		109.6 (C)
5	7.49 (d, $J = 8.4$ Hz)	123.6 (CH)	7.97 (d, $J = 8.8$ Hz)	132.1 (CH)
6	7.82 (d, $J = 8.4$ Hz)	130.4 (CH)	6.93 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz)	114.5 (CH)
7	7.42 (d, $J = 16.0$ Hz)	144.3 (CH)		170.8 (C)
8	7.72 (d, $J = 16.0$ Hz)	119.2 (CH)	4.00 (s)	53.1 (CH_3)
9		167.5 (C)		
10	3.77 (s)	51.9 (CH_3)		
1'		103.6 (C)		103.6 (C)
2'	6.46 (d, $J = 2.0$ Hz)	103.5 (CH)	6.45 (d, $J = 2.4$ Hz)	103.6 (CH)
3'		165.4 (C)		163.7 (C)
4'		104.8 (C)		104.6 (C)
5'	7.96 (d, $J = 8.4$ Hz)	133.3 (CH)	7.94 (d, $J = 8.8$ Hz)	133.3 (CH)
6'	6.56 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz)	109.6 (CH)	6.56 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz)	109.6 (CH)
7'		166.0 (C)		166.1 (C)

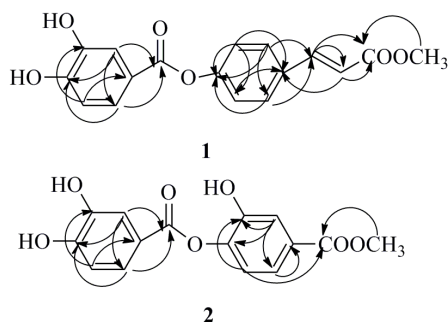


图 2 新结构化合物 1 和 2 的 HMBC 相关 ($\text{H} \rightarrow \text{C}$)

Fig. 2 Key HMBC correlations (from H to C) for new compounds 1 and 2

算值为 327.047 5), 确定化合物 2 的分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$ 。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 216 (2.76), 263 (1.14); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 537, 3 276, 2 938, 1 649, 1 623, 1 549, 1 516, 1 454 和 1 373, 显示结构中存在羟基、酯基和苯环。

与化合物 1 的 NMR 谱相比 (表 1), 化合物 2 结构中含有 3',4'-二羟基苯甲酰基。同时, 低场区显示 ABX 取代的苯环 δ_{H} 6.97 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 7.97 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.93 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz) 和 δ_{C} 111.3, 111.7, 157.0, 109.6, 132.1, 114.5, 170.8; 1 个甲氧基 δ_{H} 4.00 (3H, s) 和 δ_{C} 53.1, 表明存在 4-O-3-羟基苯甲酸甲酯基团。在 HMBC 谱 (图 2) 中, H-2

(δ_{H} 6.97) 与 C-3 (δ_{C} 157.0)、C-4 (δ_{C} 109.6) 和 C-6 (δ_{C} 114.5) 相关, H-5 (δ_{H} 7.97) 与 C-3 和 C-7 (δ_{C} 170.8) 相关, H-6 (δ_{H} 6.93) 与 C-1 (δ_{C} 111.3) 和 C-2 (δ_{C} 111.7) 相关, CH_3 -8 (δ_{H} 4.00) 与 C-7 相关, 确证了 4-O-3-羟基苯甲酸甲酯基团的存在。由此, 确定化合物 2 的结构为 4-O-(3',4'-二羟基苯甲酰基)-3-羟基苯甲酸甲酯, 经检索, 为 1 个新化合物, 命名为青花椒酚 B。

化合物 3: 无色胶状物; ESI-MS m/z : 155.1 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$, 分子式 $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.64 (1H, s, H-4), 6.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 3.66 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8), 2.65 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 146.1 (C-6), 144.6 (C-1), 131.7 (C-4), 121.2 (C-3), 117.0 (C-2), 116.3 (C-5), 64.6 (C-8), 39.6 (C-7)。上述数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 3 为 3,4-二羟基苯乙醇。

化合物 4: 无色晶体 (甲醇); ESI-MS m/z : 273.2 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$, 分子式 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_7$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -32.6^\circ$ (c 0.08, 甲醇); ^1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 4.73 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 6.69 (2H, dd, $J = 6.8, 2.4$ Hz, H-3, H-5), 6.96 (2H, dd, $J = 6.8, 2.4$ Hz, H-2, H-6), 4.73 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 3.41 (1H, d, $J = 7.2$ Hz,

H-2'), 3.36 (1H, m, H-3'), 3.41 (1H, m, H-4'), 3.36 (1H, m, H-5'), 3.88 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-6'a), 3.70 (1H, dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 152.4 (C-1), 116.6 (C-2, C-6), 119.4 (C-3, C-5), 153.8 (C-4), 103.0 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.0 (C-3', C-5'), 71.4 (C-4'), 62.5 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为熊果苷。

化合物 **5**: 无色胶状物; ESI-MS m/z : 309.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{Na}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.41 (1H, s, H-2), 6.35 (1H, s, H-4), 6.28 (1H, s, H-6), 6.28 (1H, s, H-6), 2.21 (3H, s, H₃-7), 4.84 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 3.33 (1H, m, H-2'), 3.65 (1H, m, H-3'), 3.25 (1H, m, H-4'), 3.33 (1H, m, H-5'), 3.90 (1H, dd, $J = 12.0, 1.2$ Hz, H-6'a), 3.70 (1H, dd, $J = 12.0, 5.2$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 160.1 (C-1), 102.2 (C-2), 159.2 (C-3), 109.7 (C-4), 141.2 (C-5), 111.2 (C-6), 21.6 (C-7), 102.2 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.4 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.5 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为蓖麻酚糖苷。

化合物 **6**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 293.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{Na}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -25.1^\circ$ (c 0.1, 甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 4.89 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-1a), 4.62 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-1b), 7.37 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3, 7), 7.28 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-4, 6), 7.23 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 4.31 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.18~3.30 (4H, m, 2'~5'), 3.86 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'a), 3.65 (1H, dd, $J = 12.0, 5.6$ Hz, H-6'a); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 71.8 (C-1), 139.1 (C-2), 129.2 (C-3), 129.3 (C-4), 128.7 (C-5), 129.3 (C-6), 129.2 (C-7), 103.3 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.8 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为莽醇葡萄糖苷。

化合物 **7**: 红色胶状物; ESI-MS m/z : 319.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{Na}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -52.6^\circ$ (c 0.5, 甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 3.31 (2H, m, H-7), 3.35~3.46 (4H, m, H-2'~5'), 3.69 (1H, dd, $J = 11.6, 5.2$ Hz, H-6'a), 3.88 (1H, dd, $J = 11.6, 1.2$ Hz, H-6'b), 4.84 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 5.00 (1H, dd, $J = 8.8, 4.4$ Hz, H-9a), 5.02 (1H, dd, $J = 12.0, 1.6$ Hz, H-9b), 5.92 (1H, m, H-8), 7.02 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2, 6), 7.09 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3, 5); $^{13}\text{C-NMR}$

(100 MHz, Methanol- d_4) δ : 157.6 (C-1), 139.2 (C-2, 6), 130.5 (C-3, 5), 135.3 (C-4), 40.4 (C-7), 117.8 (C-8), 115.7 (C-9), 102.5 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.4 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.5 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[12-13], 故鉴定化合物 **7** 为 1-*O*- β -*D*-葡萄糖基糖基-4-烯丙基苯。

化合物 **8**: 无色胶状物; ESI-MS m/z : 317.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{O}_8$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -26.3^\circ$ (c 0.1, 甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.10 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.72 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.64 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-5), 4.69 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 3.88 (1H, dd, $J = 12.8, 1.6$ Hz, H-6'a), 3.70 (1H, dd, $J = 12.8, 4.8$ Hz, H-6'b), 3.45 (2H, dd, $J = 7.2, 6.0$ Hz, H-2', 3'), 3.39 (2H, m, H-4', 5'), 2.70 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7), 3.69 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 62.5 (C-6'), 71.4 (C-4'), 75.0 (C-2'), 78.0 (C-3', 5'), 103.0 (C-1'), 145.3 (C-1), 148.4 (C-2), 117.7 (C-3), 136.2 (C-4), 121.4 (C-5), 119.1 (C-6), 39.7 (C-7), 64.3 (C-8)。上述数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为 1,2-二羟基苯乙醇-1-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 无色胶状物; ESI-MS m/z : 353.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.10 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.76 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3), 6.64 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-5), 4.75 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 3.86 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-6'a), 3.70 (1H, dd, $J = 11.2, 7.2$ Hz, H-6'b), 3.45 (2H, m, H-2', 3'), 3.39 (2H, m, H-4', 5'), 2.90 (2H, m, H-7), 3.69 (2H, m, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 146.7 (C-1), 146.7 (C-2), 116.9 (C-3), 132.1 (C-4), 125.2 (C-5), 119.6 (C-6), 39.5 (C-7), 64.3 (C-8), 104.4 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.6 (C-5'), 62.5 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为 2-甲氧基苯乙醇-1-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色无定形粉末; ESI-MS m/z : 377.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{Na}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -12.7^\circ$ (c 0.1, 甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.52 (2H, s, H-3, 5), 5.94 (1H, m, H-8), 4.90 (1H, d, $J = 17.2$ Hz, H-9a), 4.80 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.81 (6H, s, 2, 4-OMe), 3.33 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H = 7), 3.39 (1H, m, H-2'), 3.47 (1H, m, H-3'), 3.20 (1H, m, H-4'), 3.39 (1H, m, H-5'), 3.78 (1H, dd, $J = 12.4, 1.6$ Hz, H-6'a),

3.66 (1H, dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, H-6'b); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 154.2 (C-2, 6), 138.7 (C-1), 138.4 (C-4), 134.7 (C-8), 116.2 (C-9), 107.5 (C-3, 5), 105.6 (C-1'), 78.3 (C-3'), 77.8 (C-5'), 75.7 (C-2'), 71.3 (C-4'), 62.6 (C-6'), 57.0 (1, 3-OMe), 41.4 (C-7)。上述数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **10** 为 2,6-二甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚-1- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **11**: 黄色胶状物; ESI-MS m/z : 357.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -53.0^\circ$ (c 0.2, 甲醇); ^1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 3.29~3.49 (6H, m, H-7, 2'~5'), 3.66 (1H, dd, $J = 12.2, 4.0$ Hz, H-6a'), 3.84 (3H, s, H-10), 3.85 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-6b'), 4.80 (1H, m Hz, H-1'), 5.02 (1H, brd, $J = 9.2$ Hz, H-9a), 5.06 (1H, dd, $J = 15.6, 1.2$ Hz, H-9b), 5.94 (1H, m, H-8), 6.71 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, H-5), 6.81 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-3), 7.06 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 150.8 (C-2), 146.3 (C-1), 139.0 (C-4), 136.4 (C-8), 122.10 (C-5), 118.3 (C-6), 115.9 (C-9), 114.1 (C-3), 103.1 (C-1'), 78.2 (C-3'), 77.8 (C-5'), 74.9 (C-2'), 71.3 (C-4'), 62.5 (C-6'), 56.7 (2-OMe), 40.7 (C-7)。上述数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **11** 为 2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **12**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 395.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{Na}$; ^1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 6.74 (2H, s, H-3, 5), 6.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 6.32 (1H, dt, $J = 15.6, 5.2$ Hz, H-8), 4.86 (1H, m, H-1'), 4.22 (2H, brd, $J = 5.2$ Hz, H-9), 3.82 (6H, s, 2, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, Methanol- d_4) δ : 154.3 (C-2, 6), 135.9 (C-1), 135.2 (C-4), 131.3 (C-8), 130.0 (C-7), 105.4 (C-3, 5), 105.3 (C-1'), 78.3 (C-3'), 77.8 (C-5'), 75.7 (C-2'), 71.3 (C-4'), 63.6 (C-9), 62.6 (C-6'), 57.1 (2, 6-OCH₃)。上述数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **12** 为紫丁香苷。

4 青花椒抗氧化活性部位的筛选研究

利用 ABTS⁺自由基清除的活性筛选技术^[19], 筛选并评价青花椒的乙醇-水提取物经 D101 大孔吸附树脂洗脱后的不同部位的抗氧化活性。D101 大孔树脂 4 个洗脱部位 (表 2) 和阳性对照 V_C 分别配制成 10.0 mg/mL 待测液, 再依次稀释成 5.0、1.0、0.5、0.1、0.01、0.005 mg/mL 溶液。将 4 个洗脱部位溶液的各浓度 50 μL 和 ABTS⁺溶液 100 μL , 以及 20 μL

V_C 或化合物和 180 μL ABTS⁺溶液分别添加到 96 孔细胞培养板。室温孵育 6 min, 检测 734 nm 处的吸光度 (A) 值, 按照公式计算清除率, 再通过 Origin 7.0 软件计算确定 IC₅₀ 值。不同洗脱部位抗氧化活性结果见表 2, 60%乙醇洗脱部位具有最好的抗氧化活性。

$$\text{清除率} = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0$$

A_0 为与乙醇混合的 ABTS⁺溶液的 A 值, A_1 为样品与 ABTS⁺混合溶液的 A 值, A_2 为样品的 A 值

表 2 青花椒提取物 D101 大孔吸附树脂 4 个洗脱部位的 ABTS⁺自由基清除活性

Table 2 ABTS⁺ Radical-scavenging of four fractions of 70% ethanol extract of *Z. schinifolium*

洗脱部位	IC ₅₀ /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
30%乙醇洗脱部位	6.94
60%乙醇洗脱部位	5.25
80%乙醇洗脱部位	7.03
95%乙醇洗脱部位	39.68
V _C	1.13

5 单体化合物的抗氧化活性筛选研究

采用 ABTS⁺自由基清除的活性筛选技术^[19], 筛选并评价单体化合物的抗氧化能力。各单体化合物和阳性对照药 V_C 分别配制成 0.5 和 0.05 mmol/L 的溶液, 具体步骤与抗氧化活性部位的筛选研究相同。筛选结果显示, 化合物 **3**~**5**、**8** 和 **9** 具有较好的抗氧化活性。化合物 **3**~**5**、**8**、**9** 和 V_C 分别配制成 5.0、1.0、0.5、0.1、0.01、0.001 mmol/L 的溶液, 测定 ABTS⁺自由基清除活性, 结果其 IC₅₀ 值分别为 19.0、4.5、19.0、10.0、15.0 $\mu\text{mol/L}$, 其中化合物 **4** 的抗氧化活性较好, 与阳性对照药 V_C (IC₅₀ = 6.4 $\mu\text{mol/L}$) 相当。

6 讨论

从青花椒 70%乙醇-水提取物的最强抗氧化活性部位中分离鉴定了 2 个新结构化合物青花椒酚 A 和青花椒酚 B, 以及 10 多个多酚糖苷类化合物。化合物 **3**~**5**、**8** 和 **9** 具有良好的抗氧化活性, 化合物 **4** 的抗氧化活性与阳性对照药 V_C 相当。本研究丰富了青花椒的化学成分类型和抗氧化活性物质基础, 为青花椒活性物质的深入理解和开发应用提供了参考。

参考文献

[1] 王世敏, 程金朋, 刘健君, 等. 不同提取工艺下昭通产

- 青花椒的挥发油成分比较 [J]. 南方农业, 2017, 24(11): 125-126.
- [2] Lee H Y, Park Y M, Lee Y H, *et al.* Immunostimulatory effect of *Zanthoxylum schinifolium*-based complex oil prepared by supercritical fluid extraction in splenocytes and cyclophosphamide-induced immunosuppressed rats [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2018, doi: 10.1155/2018/8107326.
- [3] Nguyen P H, Zhao B T, Kim O, *et al.* Anti-inflammatory terpenylated coumarins from the leaves of *Zanthoxylum schinifolium* with aglucosidase inhibitory activity [J]. *J Nat Med*, 2016, 70(2): 276-281.
- [4] 刘锁兰, 魏璐雪, 王 动, 等. 青花椒化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1991, 26(11): 836-840.
- [5] Mun S I, Ryu H S, Lee H J, *et al.* Further screening for antioxidant activity of vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *J Korean Soc Food Nutr*, 1994, 23(3): 466-471.
- [6] Jo Y S, Huang D T L, Bae K W, *et al.* Monoamine oxidase inhibitory coumarin from *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(1): 84-85.
- [7] Kim J S, Jun D Y, Woo M H, *et al.* Chemical composition and antitumor apoptogenic activity of methylene chloride extracts from the leaves of *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *J Life Sci*, 2006, 16(3): 546-554.
- [8] Pouysegur L, Sylla T, Garnier T, *et al.* Hypervalent iodine-mediated oxygenative phenol dearomatization reactions [J]. *Tetrahedron*, 2010, 66(31): 5908-5917.
- [9] Pawlowska A M, Deleo M, Braca A. Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: identification of anthocyanins and gallic acid derivatives [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(26): 10234-10238.
- [10] Bian Q, Yang H, Chan C, *et al.* Fingerprint analysis and simultaneous determination of phenolic compounds in extracts of *Curculiginis rhizoma* by hplc-diode array detector [J]. *Chem Pharm Bull*, 2013, 61(8): 802-808.
- [11] Seigler D S, Pauli G F, Nahrstedt A, *et al.* Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(8): 873-882.
- [12] Ly T N, Yamauchi R, Shimoyamada M, *et al.* Isolation and structural elucidation of some glycosides from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance) [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(17): 4919-4924.
- [13] 李翠红, 周红娇, 羊晓东, 等. 棒柄花的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(6): 514-515.
- [14] Ageta M, Ishimaru K, Nonaka G, *et al.* Tannins and related compounds. Ixiv. six new phenol glucoside gallates from *Castanopsis cuspidate* var. *Sieboldii* Nakai [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(3): 870-876.
- [15] Fan C Q, Yue J M. Biologically active phenols from *Saussurea medusa* [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2003, 11(5/6): 703-708.
- [16] Wu Q L, Wang M F, Simon J E, *et al.* Studies on the chemical constituents of loquat leaves (*Eriobotrya japonica*). *Oriental Foods and Herbs* [M]. Washington: American Chemical Society, ACS Symposium Series, 2003.
- [17] Shimoda K, Kondo Y, Nishida T, *et al.* Biotransformation of thymol, carvacrol, and eugenol by cultured cells of *Eucalyptus perriniana* [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(20): 2256-2261.
- [18] 李 硕, 胡立宏, 楼凤昌. 云木香化学成分研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(1): 62-64.
- [19] Zhao J Q, Wang Y M, Yang Y L, *et al.* Antioxidants and α -glucosidase inhibitors from "Liucha" (young leaves and shoots of *Sibiraea laevigata*) [J]. *Food Chem*, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.024.