

海风藤化学成分及其抗菌活性和抗冠状病毒活性研究

林少丹, 陈丽萍, 潘永晨, 熊秀比, 李光盈, 袁捷, 吴杰伟*

广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研究海风藤(风藤 *Piperis kadsurae* 干燥藤茎)的化学成分, 对其抗菌及抗冠状病毒进行活性评价。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20、MCI 柱色谱以及半制备高效液相色谱等进行分离纯化, 并运用 NMR、HR-ESI-MS 等技术对化合物进行结构鉴定。采用梯度稀释法, 对分离所得的化合物进行抗蜡样芽胞杆菌、金黄色葡萄球菌以及耐甲氧西林金黄色球菌(MRSA)的活性评价, 初步探讨了所分离化合物对 SARS-CoV-2 主蛋白酶(main protease, M^{pro})的抑制活性。结果 从海风藤醋酸乙酯萃取部位分离得到 16 个化合物, 分别鉴定 *trans*-2-methoxy-4,5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidide (1)、*cis*-2-methoxy-4,5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidide (2)、3-(4,7-dimethoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(1-piperidinyl)-2-propen-1-one (3)、4-[5-[(1*E*)-3-hydroxy-1-propen-1-yl]-7-methoxy-3-methyl-2-benzofuranyl]-2-methoxyphenol (4)、methyl (2*E*,4*E*)-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,4-pentadienoate (5)、胡椒酸(6)、辛夷脂素(7)、denudatin B (8)、1-cinnamoylpyrrolidine (9)、假蒟蒾碱(10)、胡椒碱(11)、胡椒新碱(12)、(*E,E*)-*N*-isobutyl-2,4-octadienamide (13)、4-allylbenzene-1,2-diol (14)、rabdosis acid A (15)、白桦脂酸(16)。与阳性对照药万古霉素相比, 化合物 1~2、4~10、12~16 均具有显著的抗菌活性, 其中, 化合物 1、5、6、10、12 和 15 对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值均为 0.78 μg/mL, 化合物 1~2、8~9、12 和 14 对 MRSA 的 MIC 值均为 3.12 μg/mL。同时, 与阳性抑制剂(Ebselen)相比, 化合物 2~4、8、11~12、14、16 具有潜在的抗冠状病毒活性, 半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC₅₀)为 4~7 μmol/L。结论 化合物 1~6 为首次分离得到的天然产物, 并首次提供化合物 1~5 的核磁数据; 化合物 15 和 16 为首次从胡椒科植物中分离得到; 化合物 7、9~12、14 为首次从海风藤植物中分离得到; 化合物 2、8、12 在抗菌及抗冠状病毒方面均有较为显著的药理活性, 可为后续研究和开发相关新药提供科学依据。

关键词: 海风藤; 酰胺类生物碱; 抗耐甲氧西林金黄色球菌; 抗冠状病毒; rabdosis acid A; 白桦脂酸; 胡椒新碱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)15-5024-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.15.003

Chemical constituents and antibacterial, anti-coronavirus activities of *Piperis Kadsurae Caulis*

LIN Shaodan, CHEN Liping, PAN Yongchen, XIONG Xiubi, LI Guangyi, YUAN Jie, WU Jiewei

School of Chinese Material Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the Haifengteng (*Piperis Kadsurae Caulis*) (dried vine stems of *P. kadsurae*) and evaluate their antibacterial and anti-coronavirus activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, MCI column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography, and their structures were identified by NMR and HR-ESI-MS and other spectral techniques. The activity of the isolated compounds against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was evaluated by gradient dilution method. In addition, the inhibitory activity of the isolated compounds against SARS-CoV-2 main protease (M^{pro}) was preliminarily evaluated. **Results** A total of sixteen compounds were isolated and identified as *trans*-2-methoxy-4,5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidide (1), *cis*-2-methoxy-4,5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidide (2), 3-(4,7-dimethoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(1-piperidinyl)-2-propen-1-one (3), 4-[5-[(1*E*)-3-hydroxy-1-propen-1-yl]-7-methoxy-3-methyl-2-benzofuranyl]-2-methoxyphenol (4), methyl (2*E*,4*E*)-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,4-pentadienoate (5), piperic acid (6), fargesin (7), denudatin B (8), 1-cinnamoylpyrrolidine (9), sarmentine (10), piperine (11), piperanine (12), (*E,E*)-*N*-isobutyl-2,4-octadienamide (13), 4-allylbenzene-

收稿日期: 2024-02-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(81903509); 东莞广州中医药大学研究院培育项目(2023PY0102)

作者简介: 林少丹(1999—), 女, 硕士研究生, 从事新药先导化合物研究。E-mail: linshaodan2022@163.com

*通信作者: 吴杰伟(1985—), 男, 副研究员, 研究生导师, 从事天然药物化学研究。E-mail: wujiewei@gzucm.edu.cn

1,2-diol (**14**), rabdosi acid A (**15**), betulinic acid (**16**). Compared with the positive control vancomycin, compounds **1—2**、**4—10**、**12—16** had significant antibacterial activity. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of compounds **1**, **5**, **6**, **10**, **12** and **15** against *Staphylococcus aureus* were 0.78 $\mu\text{g/mL}$, and the MIC values of compounds **1—2**、**8—9**、**12** and **14** against MRSA were 3.12 $\mu\text{g/mL}$. At the same time, compounds **2—4**, **8**, **11—12**, **14** and **16** showed potential anti-coronavirus activity with median inhibition concentration (IC_{50}) values ranging from 4—7 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compounds **1—6** were the natural products isolated for the first time, and the NMR data of compounds **1—5** were provided firstly in our study. Compounds **15** and **16** were isolated from Piperaceae for the first time. Compounds **7**, **9—12** and **14** were isolated firstly from *Piperis Kadsurae Caulis*. Compounds **2**, **8** and **12** had significant antibacterial and anti-coronavirus activities, which could provide scientific basis for subsequent research and development of related new drugs.

Key words: *Piperis Kadsurae Caulis*; amide alkaloids; anti-MRSA; anti-coronavirus; rabdosi acid A; betulinic acid; piperanine

胡椒科 (Piperaceae) 胡椒属 *Piper* Linn. 植物主产于全球的热带地区, 大约含有 2 000 种, 我国现存约有 60 余种, 分布于台湾经东南至西南部各省区^[1]。胡椒属植物入药使用已经有上千年历史, 在《证类本草》《本草纲目》等著作中, 对相关植物记载道: “为藤本, 苗如马鞭有节, 叶如杏叶而尖, 四时不凋, 茎叶皆凑臭而极辣”^[2]。该科属植物在民间已有 20 多种入药, 主要用于通经络、祛风湿, 现代研究表明, 其植物主含木脂素、生物碱、黄酮、挥发油等成分, 在抗血小板聚集、抗炎镇痛、抗肿瘤、抗感染等方面具有较好的药理活性^[3-4]。

海风藤为胡椒科植物风藤 *Piper kadsura* (Choisy) Ohwi 的干燥藤茎, 又名爬岩香、岩胡椒, 因其常攀爬于岩石和树木上、不断向外延伸的藤类

形态为人所知, 主要分布于广东、福建、台湾等沿海地区^[5]。据《中国药典》2020 年版记载该中药性味辛、苦, 微温, 具祛风湿、通经络、止痹痛的功效, 因此民间多用于风寒湿痹、肢节疼痛等症状^[6]。现代研究表明其多含有新木脂素和酰胺类生物碱等成分, 对于药理活性研究则多集中于血小板活化因子拮抗作用、神经保护、抗炎镇痛等方面^[7-10], 其他药理活性研究少有报道, 而海风藤作为胡椒科属植物具有种类多样的化学成分以及丰富的药理活性, 还需要进一步深入研究, 因此为了深入挖掘海风藤化学成分和丰富海风藤的药理活性, 本研究对海风藤藤茎部分的醋酸乙酯提取物进行系统的化学成分研究, 并探究所得化合物在抗菌及抗冠状病毒的药理活性, 共分离得到 16 个化合物 (图 1), 分别鉴定为

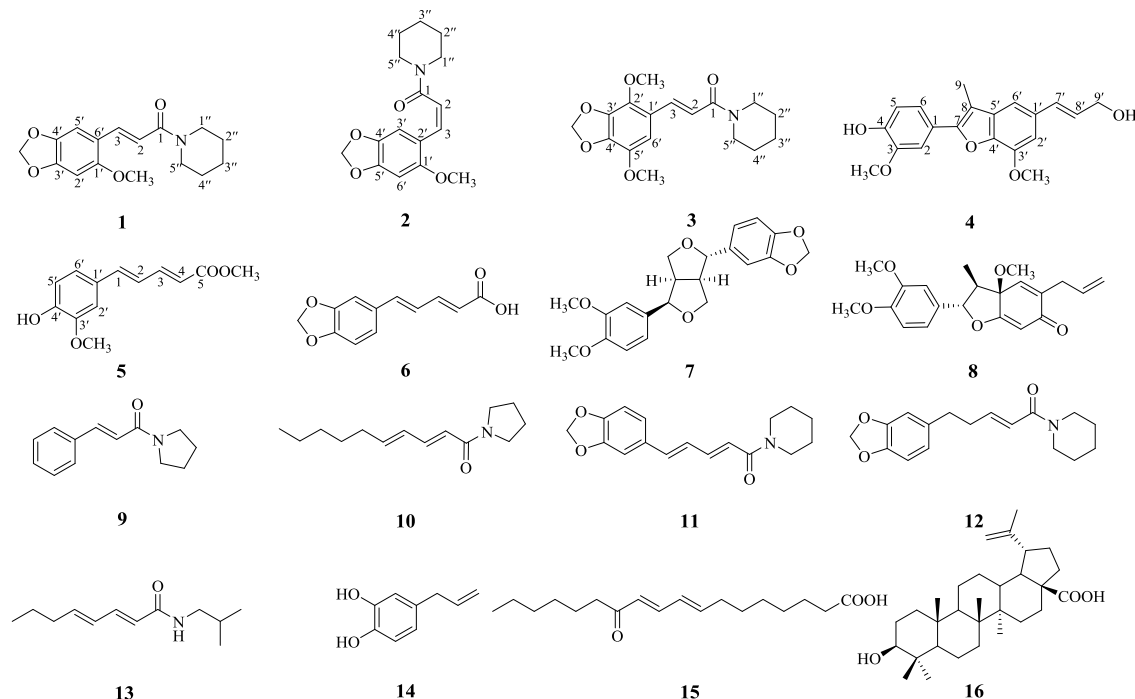


图 1 化合物 1~16 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—16

trans-2-methoxy-4.5-methyl-enedioxy-cinnamoyl-piperidide (1)、*cis*-2-methoxy-4.5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidide (2)、3-(4,7-dimethoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(1-piperidinyl)-2-propen-1-one (3)、4-[5-[(1*E*)-3-hydroxy-1-propen-1-yl]-7-methoxy-3-methyl-2-benzofuranyl]-2-methoxyphenol (4)、methyl (2*E*,4*E*)-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,4-pentadienoate (5)、胡椒酸 (piperic acid, 6)、辛夷脂素 (fargesin, 7)、denudatin B (8)、1-cinnamoylpyrrolidine (9)、假蒟蒾碱 (sarmentine, 10)、胡椒碱 (piperine, 11)、胡椒新碱 (piperanine, 12)、(*E,E*)-*N*-isobutyl-2,4-octadienamamide (13)、4-allylbenzene-1,2-diol (14)、rabdosia acid A (15)、白桦脂酸 (betulinic acid, 16), 其中化合物 1~6 为首次分离得到的天然产物, 并首次提供化合物 1~5 的核磁数据; 化合物 15 和 16 为首次从胡椒科植物中分离得到; 化合物 7、9~12、14 为首次从海风藤植物中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker AV-400 MHz 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); Waters 2695 LC 偶联 Waters Acquity ELSD、Waters 3100 SQDMS 液质联用仪; XHRE-2000A 旋转蒸发仪 (上海霄汉实业发展公司); Agilent 1100 制备型高效液相 (美国安捷伦公司); Waters Sunfire®RP C₁₈ 制备型色谱柱 (150 mm×30 mm, 5 μm); 多功能酶标仪 (PerkinElmer 公司); 柱色谱硅胶 (200~300、300~400 目, 青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); 制备型高效液相所用试剂为色谱纯级别, 其他实验所用有机试剂均属分析纯级别; 盐酸万古霉素 (德国 Biofroxx 公司, 批号 EZ2811D345); 耐甲氧西林金黄色球菌 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA JCSC4469, 中国科学院华南植物园邱声祥课题组友情赠送)、蜡样芽胞杆菌 *Bacillus cereus* (*B. cereus* CMCC63301)、蜡样芽胞杆菌 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* CMCC26003) 菌株 (广东省微生物菌种保藏中心); 新型冠状病毒 M^{pro}/3CL^{pro} 抑制剂 (上海碧云天生物科技有限公司); 恒温培养箱 (日本 SANYO 公司); 多功能酶标仪 (PerkinElmer 公司)。

海风藤药材于 2023 年 9 月采购于安徽亳州药材市场, 由广州中医药大学中药学院吴杰伟副研究员鉴定为胡椒科植物风藤 *P. kadsura* (Choisy) Ohwi

的干燥藤茎。

2 提取与分离

取海风藤药材 20 kg, 用 40 L 的 95%乙醇常温下浸泡提取 2 次 (每次 7 d), 合并 2 次提取液, 减压浓缩, 得到总浸膏, 再将总浸膏混悬于水中, 用醋酸乙酯萃取 3 次后回收溶剂得到醋酸乙酯部分 482.24 g, 将该部分采用 MCI 柱色谱, 用乙醇-水 (0:50、80:20、100:0) 梯度洗脱, 收集各流分后减压浓缩, 得 50%乙醇浸膏 136.57 g、80%乙醇浸膏 109.86 g、100%乙醇浸膏 101.76 g。

将 80%乙醇部分浸膏 109.86 g 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 15 个组分 (Fr. A~O), 组分 Fr. C (26.99 g) 经凝胶柱色谱分离, 甲醇洗脱, 得到 6 个子组分 (Fr. C1~C6), 其中 Fr. C3 有晶体析出, 得到化合物 16 (11 mg), 子组分 Fr. D (3.78 g) 经凝胶柱色谱分离, 甲醇洗脱, 得到 3 个组分 (Fr. D1~D3), Fr. D1、Fr. D2 分别经半制备高效液相纯化, 用乙腈-水 (40:60→80:20) 梯度洗脱, 体积流量 20 mL/min, Fr. D1 经纯化得化合物 15 (12.8 mg, *t_R*=63 min), Fr. D2 经纯化得化合物 5 (7.0 mg, *t_R*=20 min)、13 (11.8 mg, *t_R*=31 min)、8 (46.1 mg, *t_R*=41 min), Fr. D3 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1→0:1) 梯度洗脱, 得 3 个组分 (Fr. D3A~D3C), 其中 Fr. D3B 有晶体析出, 得到化合物 7 (19.7 mg), 将 Fr. D3C 经半制备型液相纯化 (乙腈-水 40:60→80:20), 得到化合物 14 (12.3 mg, *t_R*=12 min), 组分 Fr. E (24.88 g) 经凝胶柱色谱分离, 甲醇洗脱, 得到 5 个子组分 (Fr. E1~E5), 其中 Fr. E2 有晶体析出, 得到化合物 11 (1.18 g), Fr. E5 有固体析出, 得到化合物 3 (0.35 g), 组分 Fr. F (3.31 g) 经凝胶柱色谱分离, 得到 5 个子组分 (Fr. F1~F5), 将 Fr. F3 经半制备型液相纯化, 得到化合物 1 (8.2 mg, *t_R*=18 min)、2 (26.7 mg, *t_R*=23 min), 将 Fr. F1 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (500:1→200:1) 梯度洗脱, 得到 3 个组分 (Fr. F1A~F1C), 将 Fr. F1A 经半制备型液相纯化, 得到化合物 12 (9.9 mg, *t_R*=29 min)、10 (21.0 mg, *t_R*=39 min), 组分 Fr. G (2.85 g) 经凝胶柱分离, 得到 4 个子组分 (Fr. G1~G4), 将 Fr. G2 经硅胶柱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (20:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 (Fr. G2A~G2E), Fr. G2E 有固体析出, 得到化合物 6 (13.6 mg), 组分 Fr. H (1.63 g) 经凝胶柱色谱分离,

得到5个子组分 Fr. H1~H5, 将 Fr. H4 经半制备型液相色谱纯化, 得到化合物 **4** (16.5 mg, $t_R=17$ min), 流份 Fr. I (1.29 g) 经凝胶柱色谱分离, 得到3个子组分 (Fr. I1~I3), 将 Fr. I1 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (500:1→100:1) 梯度洗脱, 得到4个子组分 (Fr. I1A~I1D), 将 Fr. I1B 经半制备型液相色谱纯化, 得到化合物 **9** (3 mg, $t_R=13$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 290.136 9 [M+H]⁺ (Calcd. 290.136 0, C₁₆H₂₀NO₄) 结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定分子式为 C₁₆H₁₉NO₄。该化合物为首次分离得到的天然产物, 在 ¹H-NMR 中可看到反式双键的信号 δ_H 7.87 (1H, d, $J=15.5$ Hz), 6.75 (1H, d, $J=15.5$ Hz), 以及在 ¹³C-NMR 中显示苯环信号 δ_C 154.5、149.7、141.6、117.2、106.6、94.9 和酰羰基信号 δ_C 166.2, 这些信号提示化合物 **1** 结构中含有肉桂酰结构片段。在二维核磁 ¹H-¹H COSY 中可观察 H-1'' (δ_H 3.57, m) 与 H-2'' (δ_H 1.58, m) 相关, H-2'' 与 H-3'' (δ_H 1.65, m) 相关, H-3'' 与 H-4'' (δ_H 1.58, m) 相关, H-4'' 与 H-5'' (δ_H 3.57, m) 相关, 提示化合物 **1** 结构中含有六氢吡啶结构片段, 且在 HMBC 中可见酰羰基 δ_C 166.2 与 H-1''、H-5'' 相关, 则该六氢吡啶结构片段与肉桂酰结构片段形成酰胺结构。此外 ¹H-NMR 中还显示2个苯环单峰质子信号 δ_H 6.96 (1H, s), 6.50 (1H, s), 提示苯环为1,3,4,6-四取代, 最终化合物 **1** 确定为 *trans*-2-methoxy-4.5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidine, 结构如图1所示。由于文献报道^[11]中缺乏其有关核磁数据, 因此补充并归属其核磁数据如下: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.87 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-3), 6.96 (1H, s, H-5'), 6.75 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-2), 6.50 (1H, s, H-2'), 5.92 (2H, s, OCH₂O), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.57 (4H, m, H-1'', 5''), 1.65 (2H, m, H-3''), 1.58 (4H, m, H-2'', 4''); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 166.2 (C-1), 154.5 (C-1'), 149.7 (C-3'), 141.6 (C-4'), 137.2 (C-3), 117.2 (C-6'), 115.8 (C-2), 106.6 (C-5'), 101.6 (OCH₂O), 94.9 (C-2'), 56.6 (OCH₃), 47.1 (C-1''), 43.4 (C-5''), 26.8 (C-2''), 25.7 (C-4''), 24.8 (C-3'')。

化合物 **2**: 淡黄色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 290.138 0 [M+H]⁺ (Calcd. 290.138 7, C₁₆H₂₀NO₄) 结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定分子式为 C₁₆H₁₉NO₄。化合物 **2** 的 NMR 数据与化合物 **1** 极为相似, 最大的不同为化合物 **2** 的双键处于顺式结构 δ_H 6.83 (1H,

d, $J=12.5$ Hz, H-3), 5.90 (1H, d, $J=12.5$ Hz, H-2), 最终化合物 **2** 确定为 *cis*-2-methoxy-4.5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidine, 结构如图1所示。同样, 化合物 **2** 为首次分离得到的天然产物, 文献中缺乏报道其有关核磁数据^[11], 补充并归属其核磁数据如下: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.93 (1H, s, H-3'), 6.83 (1H, d, $J=12.5$ Hz, H-3), 6.49 (1H, s, H-6'), 5.90 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-2), 5.90 (2H, s, OCH₂O), 3.77 (3H, s, -OCH₃), 3.58 (2H, m, H-1''), 3.31 (2H, m, H-5''), 1.53 (4H, m, H-2'', 3''), 1.24 (2H, m, H-4''); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 167.8 (C-1), 153.1 (C-1'), 148.7 (C-5'), 141.4 (C-4'), 128.2 (C-3), 121.4 (C-2), 117.3 (C-2'), 108.5 (C-3'), 101.4 (-OCH₂O-), 94.6 (C-6'), 56.7 (-OCH₃), 47.5 (C-5''), 42.2 (C-1''), 26.2 (C-4''), 25.4 (C-2''), 24.6 (C-3'')。

化合物 **3**: 无色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 320.1481 [M+H]⁺ (Calcd. 320.149 3, C₁₇H₂₂NO₅) 结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定分子式为 C₁₇H₂₁NO₅。同样地, 化合物 **3** 的 NMR 数据与化合物 **1** 相似, 最大的不同点为化合物 **3** 的 ¹H-NMR 中只显示1个苯环质子信号 δ_H 7.10 (1H, s, H-6'), 同时可观察到2个甲氧基信号: δ_H 3.85 (6H, s, -2OCH₃), 最终化合物 **3** 确定为 3-(4,7-dimethoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-(1-piperidinyl)-2-propen-1-one, 结构如图1所示。同样, 该化合物为首次分离得到的天然产物, 且缺乏文献报道其有关核磁数据, 因此补充并归属其核磁数据如下: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.64 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-3), 7.12 (1H, d, $J=15.5$ Hz, H-2), 7.10 (1H, s, H-6'), 6.06 (2H, s, -OCH₂O-), 3.85 (6H, s, 2×-OCH₃), 3.73 (2H, m, H-1''), 3.52 (2H, s, H-5''), 1.60 (2H, m, H-3''), 1.49 (4H, m, H-2'', 4''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.6 (C-1), 139.4 (C-5'), 138.7 (C-4'), 138.0 (C-3'), 136.9 (C-2'), 135.3 (C-3), 121.2 (C-1'), 117.2 (C-2), 106.2 (C-6'), 102.1 (-OCH₂O-), 60.3 (5'-OCH₃), 56.8 (2'-OCH₃), 46.0 (C-1''), 42.6 (C-5''), 26.6 (C-2''), 25.5 (C-3''), 24.2 (C-4'')。

化合物 **4**: 无色固体, HR-ESI-MS m/z : 341.137 2 [M+H]⁺ (Calcd. 341.138 35, C₂₀H₂₁O₅) 结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₀H₂₁O₅。化合物 **4** 的 NMR 数据与已知化合物 eupomatenoid-7^[12]非常相似, 与 eupomatenoid-7 的 NMR 数据相对比, 化合物 **4** 的 NMR 图谱中没有显示烯烃键上的甲基信号, 取而代之的是1个羟甲基信号 δ_H 4.14 (m, 2H,

H-9'), 因此化合物 **4** 确定为 4-[5-[(1*E*)-3-hydroxy-1-propen-1-yl]-7-methoxy-3-methyl-2-benzofuranyl]-2-methoxyphenol, 结构如图 1 所示。同样化合物 **4** 为首次分离得到的天然产物, 文献报道^[13]中缺乏其有关核磁数据, 因此补充并归属其核磁数据如下: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.25 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.21 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6'), 7.20 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz, H-6), 7.01 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 6.63 (1H, d, *J* = 15.9, H-7'), 6.41 (1H, dt, *J* = 15.9, 5.2 Hz, H-8'), 4.14 (2H, m, H-9'), 3.97 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3-OCH₃), 2.39 (3H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 151.1 (C-7), 147.8 (C-3), 147.1 (C-4), 144.6 (C-3'), 141.4 (C-4'), 132.9 (C-1'), 132.6 (C-5'), 129.6 (C-8'), 129.2 (C-7'), 121.9 (C-1), 119.8 (C-6), 115.9 (C-5), 110.3 (C-2), 109.6 (C-6'), 109.6 (C-8), 104.8 (C-2'), 61.7 (C-9'), 55.8 (3'-OCH₃), 55.7 (3-OCH₃), 9.3 (C-9)。

化合物 **5**: 黄色油状物, HR-ESI-MS *m/z*: 233.082 7 [M-H]⁻ (Calcd. 233.080 8, C₁₃H₁₃O₄) 结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定分子式为 C₁₃H₁₄O₄。化合物 **5** 的 NMR 数据与已知化合物 methyl *trans*-ferulate^[14]极为相似, 最大不同点为化合物 **5** 中显示 2 个反式双键信号 δ_H 6.83 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-1), 6.72 (1H, dd, *J* = 15.5, 10.7 Hz, H-2), 7.43 (1H, dd, *J* = 15.2, 10.7 Hz, H-3), 5.95 (1H, d, *J* = 15.2 Hz, H-4), 且在 ¹H-¹H COSY 中可观察到 H-2 与 H-3 相关, 提示该 2 个反式双键相连, 最终化合物 **5** 确定 methyl (2*E*,4*E*)-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,4-pentadienoate, 结构如图 1 所示。该化合物为首次分离得到的天然产物, 由于文献报道^[15]缺乏其有关核磁数据, 因此补充并归属其核磁数据如下: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.43 (1H, dd, *J* = 15.2, 10.7 Hz, H-3), 6.99 (1H, dd, *J* = 8.1, 2.0 Hz, H-5'), 6.97 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 6.89 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, H-6'), 6.83 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-1), 6.72 (1H, dd, *J* = 15.5, 10.7 Hz, H-2), 5.95 (1H, d, *J* = 15.2 Hz, H-4), 3.93 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.76 (3H, s, -COOCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 167.9 (C-5), 147.1 (C-4'), 146.9 (C-3'), 145.4 (C-3), 140.9 (C-1), 128.8 (C-1'), 124.1 (C-2), 121.9 (C-5'), 119.6 (C-4), 114.9 (C-6'), 108.8 (C-2'), 56.1 (3'-OCH₃), 51.7 (5-OCH₃)。

化合物 **6**: 黄色固体, HR-ESI-MS *m/z*: 219.064 7 [M+H]⁺ (Calcd. 219.0652, C₁₂H₁₁O₄) 结合 ¹H-NMR、

¹³C-NMR 确定分子式为 C₁₂H₁₀O₄。该化合物在文献中报道为合成化合物, 因此化合物 **6** 为首次分离得到的天然产物, 其相对分子质量、波谱数据与文献对比一致^[16]。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.29 (1H, m, H-6'), 7.23 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-2'), 6.94 (4H, m, H-2~5), 6.05 (2H, s, -OCH₂O-), 5.92 (1H, d, *J* = 15.2 Hz, H-5'); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 167.7 (1-COOH), 148.1 (C-3'), 148.0 (C-4'), 144.5 (C-3), 139.7 (C-5), 130.6 (C-1'), 124.9 (C-4), 123.1 (C-2), 121.4 (C-6'), 108.5 (C-5'), 105.7 (C-2'), 101.4 (-OCH₂O-)。

化合物 **7**: 白色固体, HR-ESI-MS *m/z*: 369.206 5 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₁H₂₂O₆。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.93 (1H, s, H-2), 6.87 (1H, s, H-2'), 6.85 (2H, s, H-5, 6), 6.81 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-5'), 5.94 (2H, s, -OCH₂O-), 4.86 (1H, d, *J* = 5.3 Hz, H-7), 4.42 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, H-7'), 4.12 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-9'α), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃), 3.88 (3H, s, 4-OCH₃), 3.84 (1H, m, H-9α, 9β), 3.31 (2H, m, H-9β, 8), 2.87 (1H, dd, *J* = 15.3, 5.7 Hz, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 148.9 (C-3), 148.1 (C-4), 148.1 (C-3'), 147.3 (C-4'), 135.3 (C-1'), 131.0 (C-1), 119.7 (C-6'), 117.8 (C-6), 111.1 (C-5), 109.1 (C-2), 108.3 (C-5'), 106.6 (C-2'), 101.2 (-OCH₂O-), 87.8 (C-7'), 82.1 (C-7), 71.1 (C-9'), 69.9 (C-9), 56.0 (3-OCH₃), 56.0 (4-OCH₃), 54.7 (C-8'), 50.3 (C-8)。以上谱学数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **7** 为辛夷脂素。

化合物 **8**: 黄色油状物, HR-ESI-MS *m/z*: 357.168 2 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₄O₅。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.99 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 6.85 (2H, m, H-2, 5), 6.19 (1H, s, H-2'), 5.86 (1H, s, H-5'), 5.83 (1H, m, H-8'), 5.21 (1H, s, H-7), 5.11 (1H, d, *J* = 4.9 Hz, H-9'b), 5.07 (1H, s, H-9'a), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 3.87 (3H, s, 4-OCH₃), 3.12 (2H, d, *J* = 5.1 Hz, H-7'), 3.02 (3H, s, 3'-OCH₃), 2.67 (1H, q, *J* = 7.6 Hz, H-8), 1.11 (3H, d, *J* = 7.5 Hz, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 187.4 (C-6'), 173.3 (C-4'), 148.9 (C-4), 148.7 (C-3), 142.8 (C-1'), 135.2 (C-8'), 132.8 (C-2'), 132.1 (C-1), 118.3 (C-9'), 117.3 (C-6), 110.8 (C-5), 109.1 (C-2), 104.8 (C-5'), 94.8 (C-7), 81.2 (C-3'), 56.0 (3-OCH₃), 55.9 (4-OCH₃), 50.5 (3'-OCH₃), 46.9 (C-8), 33.4 (C-7'), 16.3 (C-9)。以上谱学数据与文献报道基

本一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为 denudatin B。

化合物 **9**: 白色固体, HR-ESI-MS m/z : 202.121 6 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{15}NO$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.62 (2H, dd, $J = 7.7, 1.8$ Hz, H-2', 6'), 7.58 (1H, s, H-3), 7.40 (3H, m, H-3'~5'), 6.95 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2), 3.72 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-2''), 3.55 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-5''), 2.04 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-4''), 1.94 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-3''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.0 (C-1), 143.3 (C-3), 136.4 (C-1'), 131.0 (C-4'), 130.0 (C-2', 6'), 129.1 (C-3', 5'), 119.7 (C-2), 48.0 (C-2''), 47.3 (C-5''), 27.0 (C-4''), 25.3 (C-3'')。以上谱学数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为 1-cinnamoylpyrrolidine。

化合物 **10**: 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z : 222.184 3 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{23}NO$ 。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.25 (1H, dd, $J = 14.8, 10.6$ Hz, H-3), 6.16 (1H, dd, $J = 15.3, 10.6$ Hz, H-4), 6.09 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-2), 6.05 (1H, m, H-5), 3.52 (2H, m, H-4'), 3.49 (2H, m, H-1'), 2.12 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-6), 1.93 (2H, q, $J = 6.8, 6.1$ Hz, H-2'), 1.83 (2H, q, $J = 6.8, 6.4$ Hz, H-3'), 1.41 (2H, q, $J = 7.2$ Hz, H-7), 1.27 (4H, m, H-8, 9), 0.86 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-10); ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.3 (C-1), 143.2 (C-5), 142.3 (C-3), 128.8 (C-4), 119.9 (C-2), 46.5 (C-1'), 45.9 (C-4'), 33.0 (C-6), 31.5 (C-2'), 28.6 (C-3'), 26.2 (C-7), 24.5 (C-8), 22.6 (C-9), 14.1 (C-10)。以上谱学数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为假蒟蒾碱。

化合物 **11**: 淡黄色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 286.142 5 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{17}H_{19}NO_3$ 。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.39 (1H, m, H-3), 6.97 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.73 (2H, m, H-4, 5), 6.43 (1H, d, $J = 14.6$ Hz, H-2), 5.96 (2H, s, OCH_2O), 3.54 (4H, m, H-1'', 5''), 1.66 (2H, m, H-3''), 1.58 (4H, m, H-2'', 4''); ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.6 (C-1), 148.3 (C-4'), 148.2 (C-3'), 142.6 (C-3), 138.3 (C-5), 131.1 (C-1'), 125.5 (C-4), 122.6 (C-6'), 120.2 (C-2), 108.6 (C-5'), 105.8 (C-2'), 101.4 (OCH_2O), 47.0 (C-5''), 43.4 (C-1''), 26.8 (C-4''), 25.7 (C-2''), 24.8 (C-3'')。以上谱学数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **11** 为胡椒碱。

化合物 **12**: 浅黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 288.158 7 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{17}H_{21}NO_3$ 。¹H-NMR

(400 MHz, CD_3OD) δ : 6.69 (1H, m, H-3), 6.68 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 6.66 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-5'), 6.62 (1H, dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, H-6'), 6.30 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-2), 5.85 (2H, s, OCH_2O), 3.52 (2H, s, H-1''), 3.44 (s, 2H, H-5''), 2.67 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-5), 2.47 (2H, m, H-4), 1.63 (2H, m, H-3''), 1.50 (4H, m, H-2'', 4''); ¹³C-NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.7 (C-1), 149.1 (C-4'), 147.2 (C-3'), 146.2 (C-3), 136.3 (C-1'), 122.5 (C-6'), 122.4 (C-2), 109.9 (C-5'), 109.0 (C-2), 102.1 (OCH_2O), 48.1 (C-5''), 44.3 (C-1''), 35.5 (C-5), 35.4 (C-4), 27.8 (C-4''), 26.8 (C-2''), 25.5 (C-3'')。以上谱学数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **12** 为胡椒新碱。

化合物 **13**: 无色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 196.169 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{21}NO$ 。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.12 (1H, dd, $J = 15.3, 10.0$ Hz, H-4), 6.05 (1H, dt, $J = 15.2, 6.3$ Hz, H-5), 5.75 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-2), 3.15 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1'), 2.12 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, H-6), 1.82 (1H, m, H-2'), 1.44 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, H-7), 0.91 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-3', 4'), 0.89 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.6 (C-1), 143.2 (C-5), 141.5 (C-3), 128.5 (C-4), 121.8 (C-2), 47.1 (C-1'), 35.1 (C-6), 28.7 (C-2'), 22.1 (C-7), 20.2 (C-3', 4'), 13.8 (C-8)。以上谱学数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **13** 为 (*E,E*)-*N*-isobutyl-2,4-octadienamamide。

化合物 **14**: 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z : 149.061 5 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_9H_{10}O_2$ 。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.79 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 6.71 (1H, s, H-3), 6.62 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 5.92 (1H, ddt, $J = 16.8, 10.0, 6.7$ Hz, H-2'), 5.38 (2H, s, 1, 2-OH), 5.05 (2H, m, H-3'), 3.27 (2H, d, $J = 6.7$ Hz, H-1'); ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 143.6 (C-2), 141.8 (C-1), 137.8 (C-2'), 133.4 (C-4), 121.1 (C-5), 115.9 (C-6), 115.7 (C-3), 115.5 (C-3'), 39.6 (C-1')。以上谱学数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **14** 为 4-allylbenzene-1,2-diol。

化合物 **15**: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 317.207 2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{18}H_{30}O_3$ 。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.13 (1H, dd, $J = 15.6, 9.9$ Hz, H-10), 6.18 (1H, m, H-8), 6.17 (1H, m, H-9), 6.07 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-11), 2.53 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-13), 2.33 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.17 (2H, m, H-7), 1.61 (4H, m, H-3, 14), 1.43 (2H, m, H-15), 1.31 (10H, m, H-

4~6, 16, 17), 0.89 (3H, t, $J=6.8$ Hz, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 201.3 (C-12), 178.9 (C-1), 146.0 (C-8), 143.2 (C-10), 129.0 (C-9), 128.0 (C-11), 40.6 (C-13), 34.0 (C-2), 33.2 (C-7), 31.5 (C-16), 29.2 (C-5), 29.2 (C-6), 29.0 (C-4), 28.5 (C-15), 24.8 (C-14), 24.5 (C-3), 22.6 (C-17), 14.1 (C-18)。以上谱学数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 **15** 为 rambosia acid A。

化合物 **16**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 455.3542 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 4.67 (1H, s, H-29 α), 4.55 (1H, s, H-29 β), 3.29 (1H, m, H-3), 2.96 (1H, m, H-19), 1.63 (3H, s, H-30), 0.92 (3H, s, H-27), 0.85 (6H, s, H-23, 26), 0.75 (3H, s, H-25), 0.64 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 177.3 (C-28), 150.4 (C-20), 109.7 (C-29), 76.9 (C-3), 55.5 (C-17), 54.9 (C-5), 50.0 (C-9), 48.6 (C-18), 46.7 (C-19), 42.1 (C-14), 40.3 (C-8), 38.6 (C-1), 38.3 (C-4), 37.7 (C-13), 36.8 (C-22), 36.4 (C-10), 34.0 (C-7), 31.8 (C-16), 30.2 (C-21), 29.3 (C-15), 28.1 (C-23), 27.2 (C-2), 25.1 (C-12), 20.5 (C-11), 19.0 (C-30), 18.0 (C-6), 16.0 (C-25), 15.9 (C-24), 15.8 (C-26), 14.4 (C-27)。以上谱学数据与文献报道基本一致^[25], 故鉴定化合物 **16** 为白桦脂酸。

4 生物活性测定

4.1 体外抗菌活性评价

根据文献报道方法^[26]进行改良, 分别将蜡样芽胞杆菌 *B. cereus*、金黄色葡萄球菌 *S. aureus* 以及耐甲氧西林金黄色球菌 (MRSA) 供测菌液配制成 1.25×10^6 CFU/mL; 待测化合物和阳性药万古霉素分别用 DMSO 配成 1 mg/mL 溶液后用 0.22 μm 微孔滤膜滤过除菌, 万古霉素存于避光的棕色小瓶。

取 20 μL 药物和 80 μL 水解酪蛋白胨 (mueller hinton, MH) 肉汤液体培养液加入 96 孔板中的第 1 排孔中, 设有待测药物组和万古霉素阳性对照组。在 96 孔板所有孔中加入供测菌液和刃天青显色剂 (0.1 mg/mL) 的混合液 100 μL , 均匀混合后, 从第 1 排孔中吸取 100 μL 溶液移到第 2 排并吹打均匀混合。依次对半稀释, 使得待测药物和万古霉素的质量浓度依次为 100、50、25、12.5、6.25、3.12、1.56、0.78 $\mu\text{g/mL}$, 同时设置 MH 培养液空白对照孔以及菌液对照孔, 最后将 96 孔板在 37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱下孵育 10~12 h 后, 观察菌液颜色变化, 将使菌液维持蓝色的孔对应的最低浓度确定为待测化合物的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。

结果如表 1 所示, 化合物 **1~2**、**4~10**、**12~16** 均具有显著的抗菌活性, 其中化合物 **1**、**5**、**6**、**10**、**12** 和 **15** 对金黄色葡萄球菌的 MIC 值均为 0.78 $\mu\text{g/mL}$, 而化合物 **1~2**、**8~9**、**12** 和 **14** 对 MRSA 的 MIC 值均为 3.12 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 1 化合物 **1~16** 对 *B. cereus*、*S. aureus*、MRSA 抑制活性
Table 1 Inhibitory activities against *B. cereus*, *S. aureus* and MRSA of compounds **1—16**

化合物	MIC/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	金黄色葡萄球菌	蜡样芽胞杆菌	MRSA
1	0.78	6.25	3.12
2	1.56	6.25	3.12
3	>50	>50	>50
4	25.00	6.25	6.25
5	0.78	6.25	6.25
6	0.78	6.25	6.25
7	1.56	3.12	6.25
8	1.56	6.25	3.12
9	3.12	6.25	3.12
10	0.78	3.12	6.25
11	>50	>50	>50
12	0.78	3.12	3.12
13	1.56	3.12	6.25
14	1.56	6.25	3.12
15	0.78	3.12	6.25
16	1.56	50.00	6.25
万古霉素	0.78	1.56	0.78

4.2 抗 SARS-CoV-2 活性评价

采用新型冠状病毒 $\text{M}^{\text{pro}}/3\text{CL}^{\text{pro}}$ 抑制剂筛选试剂盒测定化合物对 $\text{M}^{\text{pro}}/3\text{CL}^{\text{pro}}$ 的抑制活性。严格按照试剂盒说明书上操作 (Assay Buffer: 2019-nCoV $\text{M}^{\text{pro}}/3\text{CL}^{\text{pro}}=92:1$) 配制 Assay Reagent 溶液, 在 96 孔板上设置空白对照组, 100%酶活性对照组, 阳性抑制 (Ebselen 溶液) 对照组以及样品组。样品孔加入用 DMSO 溶解的待测样品溶液, 样品溶液浓度依次为 100、50、25、12.5、6.25、3.12、1.56 $\mu\text{mol/L}$ 。每组设置 3 个复孔, 依次加入测试样品溶液 (5 μL) 和 Assay Reagent 溶液 (93 μL), 混合均匀。在 37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中培养 10 min 后, 用排枪快速向各孔中加入 2 μL Substrate 底物 (试剂盒提供), 然后在 37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中孵育 5 min 后, 用多功能酶标记物测定每个孔的荧光值, 最后采用 GraphPad Prism 10 软件 (GraphPad) 计算化合物的 IC_{50} 值。

结果如表 2 所示, 化合物 **2**、**3**、**4**、**8**、**11**、**12**、

表2 化合物1~16对SARS-CoV-2的M^{pro}/3CL^{pro}抑制活性Table 2 Inhibitory activity against M^{pro}/3CL^{pro} of SARS-CoV-2 of compounds 1—16

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
1	11.71±0.06	9	7.42±0.14
2	5.52±0.19	10	9.15±0.34
3	4.79±0.10	11	5.36±0.11
4	6.47±0.35	12	5.32±0.04
5	7.21±0.20	13	12.12±0.34
6	7.31±0.09	14	6.36±0.11
7	7.95±0.26	15	11.84±0.14
8	6.40±0.22	16	4.72±0.19
Ebselen	1.05±0.03		

14、16均具有较强的抗冠状病毒活性。

5 讨论

近年来,对于中药海风藤的化学成分及药理作用报道较多,但其药理作用多集中于抗炎、血小板活化因子拮抗作用等^[7-10],在抗菌及抗病毒方面的药理作用鲜少报道。由于胡椒属植物经报道在抗菌抗病毒特别是抗冠状病毒方面均具有一定的药理活性^[27-28],因此对海风藤所分离得到的化合物进行抗菌抗病毒活性研究,对进一步应用和开发这一味中药材具有重大的意义。

本研究综合使用多种柱色谱手段,并结合如¹H-NMR、¹³C-NMR、HSQC、HMBC、HR-MS等波谱技术对海风藤的化学成分进行分离纯化与结构鉴定,共分离得到化合物16个,包含8个酰胺类生物碱(1~3、9~13)、3个木脂素(4、7~8)、1个三萜(16)等,此外化合物1~6为首次分离得到的天然产物,化合物1~5首次补充并归属其¹H、¹³C NMR数据;化合物15和16为首次从胡椒科植物中分离得到;化合物7、9~12、14为首次从海风藤植物中分离得到。抗菌与抗SARS-CoV-2活性评价结果表明,除去化合物3和11,其余化合物在抗菌方面都具有较强的药理活性,其中化合物1、5、6、10、12和15对金黄色葡萄球菌的MIC值均为0.78 μg/mL,达到与阳性对照药万古霉素相同的抑制活性,而化合物1~2、8~9、12和14对MRSA的MIC值均为3.12 μg/mL,具有较为显著的抗MRSA活性;在抗冠状病毒活性方面,化合物2~4、8、11~12、14、16均具有较强的抗冠状病毒活性。以上研究结果得出化合物2、8、12在抗菌及抗冠状病毒毒方面均具有良好的抑制活性,本研究初步探索了

海风藤化合物在抗菌及抗冠状病毒的药理作用,为进一步开发和研究海风藤这一中药以及研发相关新药提供了一定的科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [第20(1)卷] [M]. 北京: 科学出版社, 1982: 46.
- [2] 王贞佐, 呼海涛, 孟庆繁, 等. 海风藤的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7): 1305-1307.
- [3] 枉前, 张恩娟. 胡椒属植物药理作用的研究概况 [J]. 药学实践杂志, 2006, 24(3): 139-141.
- [4] 周亮, 许旭东, 杨峻山. 胡椒属植物生物碱及木脂素类化合物研究新进展 [J]. 中国药学杂志, 2002, 37(3): 161-164.
- [5] 樊晓霞. 藤类中药的文献研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 306.
- [7] Chen H, Zhu Y, Zhang Y L, et al. Neolignans and amide alkaloids from the stems of *Piper kadsura* and their neuroprotective activity [J]. *Phytochemistry*, 2022, 203: 113336-113344.
- [8] 李吉莹, 刘艳菊, 邴飞虹, 等. 海风藤抗炎作用的实验研究 [J]. 湖北中医杂志, 2006, 28(12): 17-17.
- [9] 马迎, 韩桂秋, 王银叶. 海风藤中有PAF拮抗活性的苯骈呋喃类新木脂素 [J]. 药学学报, 1993, 28(5): 370-373.
- [10] 徐瑞雯, 范雨欣, 朱莹, 等. 海风藤化学成分及神经保护活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 7959-7966.
- [11] Sehgal C K, Kachroo P L, Sharma R L, et al. Syntheses of *cis* and *trans* 2-methoxy-4,5-methylenedioxy-cinnamoyl-piperidide and revised structure of a new alkaloid from *Piper peepuloides* [J]. *Phytochemistry*, 1979, 18(11): 1865-1867.
- [12] Enriquez R G, Chavez M A, Reynolds W F. Phytochemical investigations of plants of the genus *Aristolochia*. I. isolation and NMR spectral characterization of eupomatenoid derivatives [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47(5): 896-899.
- [13] Wu C H, Kuo Y H, Pan C H. Preparation of caffeic acid derivatives for anti-angiogenesis: United States, US 20160355493 [P]. 2016-12-08.
- [14] Song M C, Yang H J, Jeong T S, et al. Heterocyclic compounds from *Chrysanthemum coronarium* L. and their inhibitory activity on hACAT-1, hACAT-2, and LDL-oxidation [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(5): 573-578.
- [15] Pospisil J, Gruz J, Rarova L, et al. Preparation of phenylpropanoid derivatives and uses thereof, WO

- 2023131362 [P]. 2023-07-13.
- [16] Choochana P, Mounjaroen J, Jongkon N, et al. Development of piperic acid derivatives from *Piper nigrum* as UV protection agents [J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(4): 477-482.
- [17] Zhang W J, Wang Y, Geng Z F, et al. Antifeedant activities of lignans from stem bark of *Zanthoxylum armatum* DC. against *Tribolium castaneum* [J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 617-626.
- [18] Reddy S D, Siva B, Poornima B, et al. New free radical scavenging neolignans from fruits of *Piper attenuatum* [J]. *Pharmacogn Mag*, 2015, 11(42): 235-241.
- [19] Ma J, Jones S H, Hecht S M. Phenolic acid amides: A new type of DNA strand scission agent from *Piper caninum* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12(14): 3885-3889.
- [20] Huang H Z, Morgan C M, Asolkar R N, et al. Phytotoxicity of sarmentine isolated from long pepper (*Piper longum*) fruit [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(18): 9994-10000.
- [21] Wu S H, Sun C R, Pei S F, et al. Preparative isolation and purification of amides from the fruits of *Piper longum* L. by upright counter-current chromatography and reversed-phase liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1040(2): 193-204.
- [22] de Oliveira Santos B V, de Oliveira Chaves M C. (*E,E*)-*N*-isobutyl-2,4-octadienamide from *Piper marginatum* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 1999, 27(1): 113-114.
- [23] Li C, Liu H X, Zhao L Y, et al. Antibacterial neolignans from the leaves of *Melaleuca bracteata* [J]. *Fitoterapia*, 2017, 120: 171-176.
- [24] Zhao C, Xing G S, Xu R, et al. *Rabdosia* acids A and B: Two new lipids from *Rabdosia lophanthoides* [J]. *Chem Nat Compd*, 2016, 52(2): 205-207.
- [25] Yang D S, Li Z L, Yang Y P, et al. Chemical constituents from *Hypericum beanii* [J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(4): 375-379.
- [26] Sudjaroen Y, Thongkao K, Suwannahong K. Inappropriate of *in vitro* antimicrobial and anticancer activities from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell extracts [J]. *J Pharm Negat Res*, 2018, 9(1):33-38.
- [27] Singh I, Israr J, Kumar A. An *in silico* investigation of the phytochemicals present in *Piper longum* roots as a potential treatment for SARS-CoV-2 [J]. *J Proteins Proteom*, 2023, 14(4): 237-251.
- [28] 邹兰, 胡月英, 陈文学. 黑胡椒石油醚相提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌机制研究 [J]. *食品科技*, 2018, 43(6): 245-249.

[责任编辑 王文倩]