

基于 OSMAC 激活-GNPS 导向的缬草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 聚酮类次生代谢产物及其抗真菌活性研究

樊浩, 王鑫, 张欣, 张东东, 王薇, 宋小妹, 李玉泽*, 邓翀*
(陕西中医药大学药学院, 陕西省太白七药研究与应用重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

摘要: 目的 研究缬草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 乙酸乙酯部位中聚酮类成分及其抗真菌活性。方法 基于 OSMAC 策略, 采用 GNPS 分子网络技术, 结合硅胶、ODS 及半制备高效液相色谱对聚酮类成分进行靶向分离纯化, 并根据其理化性质及波谱数据进行结构鉴定。采用菌丝生长速率法测定化合物对木瓜炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的抑制活性。结果 从中分离得到 18 个化合物, 分别鉴定为 hydroxysulochrin (1)、monomethylsulochrin (2)、griseophenone C (3)、diorcinol (4)、diaporchromone B (5)、chaetocyclinone B (6)、sydowinol (7)、sydowinin A (8)、aspergyllone (9)、carbonarone A (10)、penisimplicissin (11)、dihydrovermistatin (12)、3-methyl-orsellinic acid (13)、对羟基苯乙酸甲酯 (14)、2, 4-二羟基苯乙酮 (15)、2, 4-dihydroxy-3, 6-dimethylbenzoic acid (16)、2, 5-dimethylbenzene-1, 3-diol (17) 和 2, 4-dihydroxy-6-methylbenzoic acid (18)。化合物 1~3、5~8 和 11~14 的 EC₅₀ 值为 (26.21±0.13) ~ (88.25±0.29) μg/mL。结论 化合物 3~7、11~12 为首次从曲霉属真菌中分离得到, 1、8~10、13~15 为首次从该菌株中分离得到。化合物 1~3、5~8 和 11~14 具有抗真菌活性。

关键词: 缬草; *Aspergillus* sp. FH-2; 聚酮; 分离鉴定; 抗真菌活性; OSMAC 策略; GNPS 分子网络技术

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0844-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.019

OSMAC-activated and GNPS-guided investigation of polyketide secondary metabolites from an endophytic fungus *Aspergillus* sp. FH-2 of *Valeriana officinalis* and their antifungal activity

FAN Hao, WANG Xin, ZHANG Xin, ZHANG Dong-dong, WANG Wei, SONG Xiao-mei, LI Yu-ze*, DENG Chong*

(School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Key Laboratory of Research and Application of "Taibai Qi Yao", Xianyang 712046, China)

ABSTRACT: AIM To study the polyketides from the ethyl acetate fraction of *Aspergillus* sp. FH-2, an endophytic fungus isolated from *Valeriana officinalis* L. **METHODS** Based on the OSMAC strategy, GNPS molecular network technology, silica gel, ODS and semi-preparative high performance liquid chromatography were used to isolate and purify polyketides, and their structures were identified by physicochemical properties and spectral data. The antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides* was evaluated using the mycelial growth rate method. **RESULTS** Eighteen compounds were isolated and identified as hydroxysulochrin (1), monomethylsulochrin (2), griseophenone C (3), diorcinol (4), diaporchromone B (5), chaetocyclinone B (6), sydowinol (7), sydowinin A (8), aspergyllone (9), carbonarone A (10), penisimplicissin (11),

收稿日期: 2025-09-19

基金项目: 陕西省教育厅科学研究项目 (25JK0430); 国家中医药管理局重点学科项目 (zyzdxk-2023202); 秦创原中医药产业创新聚集区项目 (L2024-QCY-ZYYJJQ-X81); 陕西中医药大学创新团队项目 (2023-CXTD-05); 大学生创新训练计划项目 (S202510716010)

作者简介: 樊浩 (1994—), 男, 博士, 实验师, 从事中草药药效物质基础研究。E-mail: fanhao@sntcm.edu.cn

* 通信作者: 李玉泽 (1990—), 男, 博士, 副教授, 从事中草药药效物质基础研究。E-mail: lyz1990yeah@163.com

邓翀 (1978—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中草药药效物质基础研究。E-mail: 2051079@sntcm.edu.cn

dihydrovermistatin (12), 3-methyl-orsellinic acid (13), methyl *p*-hydroxyphenylacetate (14), 2, 4-dihydroxyacetophenone (15), 2, 4-dihydroxy-3, 6-dimethylbenzoic acid (16), 2, 5-dimethylbenzene-1, 3-diol (17) and 2, 4-dihydroxy-6-methylbenzoic acid (18). The EC₅₀ values of compounds 1-3, 5-8 and 11-14 ranged from (26.21±0.13) to (88.25±0.29) μg/mL. **CONCLUSION** Compounds 3-7 and 11-12 are isolated from *Aspergillus* genus for the first time, while 1, 8-10 and 13-15 are first obtained from this strain. Compounds 1-3, 5-8 and 11-14 have antifungal activity.

KEY WORDS: *Valeriana officinalis* L.; *Aspergillus* sp. FH-2; polyketides; isolation and identification; antifungal activity; OSMAC strategy; GNPS molecular networking

真菌病害是制约农业生产的重要因素之一, 70%以上的植物病害由真菌造成^[1]。当前, 化学合成杀菌剂仍是防治植物真菌病害的主要手段。然而, 化学农药的长期和过量使用已引发一系列突出问题, 包括病原菌抗药性的快速演化、农产品中的化学残留超标、非靶标生物的毒性效应以及对土壤和水体生态系统的长期破坏^[2-3]。这些负面影响不仅制约了现代农业的可持续发展, 也对人类健康和生态平衡构成了潜在风险。因此, 从自然界中发掘具有新颖作用靶点和环境友好特性的生物源农药, 已成为当前植物保护领域的研究热点与前沿方向^[4-5]。

缬草 *Valeriana officinalis* L. 作为一种传统药用植物, 其镇静安神、抗焦虑等功效已被广泛认可, 主要含有环烯醚萜、木脂素、黄酮等活性成分^[6]。药理学研究证实, 缬草提取物不仅具有显著的中枢神经系统调节作用, 还具备一定的抗菌、抗病毒及抗氧化活性, 暗示其蕴含着丰富的生物活性成分资源^[7]。然而, 以往研究多聚焦于宿主植物本身, 对其体内共生的微生物群落, 特别是内生真菌的物种多样性及其代谢潜力, 尚未进行系统性的挖掘。曲霉属 *Aspergillus* 真菌作为一类广泛分布于自然界的丝状真菌, 以其强大的次生代谢产物合成能力而备受关注^[8]。该属真菌能够产生结构多样、骨架新颖的聚酮、萜类、生物碱及肽类化合物, 其中许多分子已作为药物或先导化合物应用于临床, 如降脂药洛伐他汀、抗真菌剂棘白菌素等^[9-10]。因此, 本研究对缬草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 次生代谢产物进行分离纯化, 以期对缬草内生真菌资源的深入开发利用及新型抗真菌先导化合物的筛选提供参考。

1 材料

木瓜炭疽杆菌 (广东省农业科学院果树研究所)。LC-6AD 型半制备高效液相色谱仪, 配置 SPD-20A 紫外可见光检测器 (日本岛津公司);

AVANCE 型核磁共振波谱仪 (德国 Burkert 公司); Triple TOF™ 5600+ 高分辨液质联用仪 (美国 AB SCIEX 公司); 圆二色谱仪 (英国 Applied PhotoPhysics 公司); Welch Ultimate XB-C₁₈ 半制备色谱柱 (10 mm×250 mm, 5 μm); 旋光分析仪 (上海仪电物理光学仪器有限公司); RV10 型旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司); 超净工作台 (苏州净化设备有限公司); 柱用硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工有限公司)。海盐、大米、土豆购买于当地市场。甲醇 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯 (分析纯, 天津市天力化学试剂有限公司); 纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法

2.1 菌株来源与鉴定 菌株 *Aspergillus* sp. FH-2 分离自陕西秦岭太白山缬草 *Valeriana officinalis* L. 的新鲜根茎, 其宿主植物经陕西中医药大学王薇教授鉴定为正品。采用分子生物学方法对该菌株进行鉴定, 提取其基因组 DNA, PCR 扩增 ITS 区段, 并将测序结果 (GenBank 登录号 KF367546.1) 与 GenBank 数据库进行序列比对, 鉴定其分类学归属为 *Aspergillus* sp.。该菌株保藏于陕西中医药大学药学院太白七药研究与应用重点实验室。

2.2 菌株培养 大米培养基 (1 号培养基): 100 g 大米/瓶、115 mL 水/瓶、盐度 3.5%; 麦麸培养基 (2 号培养基): 100 g 麦麸/瓶、115 mL 水/瓶、盐度 3.5%; 小麦培养基 (3 号培养基): 100 g 小麦/瓶、115 mL 水/瓶、盐度 3.5%; E 培养基 (4 号培养基): 葡萄糖 4%、土豆水 400 g/L、盐度 15% (自然 pH); PDB 培养基 (5 号培养基): 葡萄糖 2%、土豆水 200 g/L、盐度 6.5% (自然 pH); GPY (6 号培养基): 葡萄糖 1.0%、蛋白胨 1.0%、酵母膏 0.2%、海盐 0.25% (pH=7.0~7.5); 真 1 培养基 (7 号培养基): 麦芽糖 4%、山梨醇 5%、酵母膏 1.3%、味精 1.0%、色氨酸 0.05%、MgSO₄ · 7H₂O

0.03%、 KH_2PO_4 0.05%、盐度 3.5% (pH = 6.5 ~ 7.0); 真2培养基(8号培养基): 酵母膏 1.3%、味精 1.0%、色氨酸 0.05%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03%、盐度 3.5% (pH = 6.5 ~ 7.0)。

2.3 一株多化合物(OSMAC)策略下指纹信息分析 为充分挖掘 *Aspergillus* sp. FH-2 菌株的代谢潜能,在8种培养基中进行发酵培养并分析代谢产物差异,以确定最优培养基。发酵产物经 LC-MS 分析,色谱条件为 Welch Ultimate XB-C₁₈ 半制备色谱柱(10 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~2.5 min, 10%~30% A; 2.5~15 min, 30%~90% A); 体积流量 0.7 mL/min; 柱温 30℃; 全波长扫描; 进样量 3 μL。

2.4 培养发酵 将 *Aspergillus* sp. FH-2 接种于无菌 PDB 固体培养基表面。待其形成单菌落后,转接至装有 500 mL PDB 液体培养基的培养瓶中。将培养瓶置于恒温摇床中(28℃, 165 r/min)振荡培养 2 d,获得种子液。取 10 mL 种子液,接种于装有大米培养基(100 g 大米/瓶、115 mL 水/瓶、盐度 6.5%)的 1 L 培养瓶中,25℃静置培养 30 d。此大规模培养过程总体积为 50 L。

2.5 GNPS 分子网络建设 将二级流份的 LC-MSⁿ 分析和参考 MS/MS 谱图存储在 GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>) 中,将结果导入 Cytoscape 3.7.2 (www.cytoscape.org) 软件中进可视化处理。分子网络使用 GNPS 中的在线工作流程创建,数据使用 MS-Cluster 进行聚类,母离子质量容差为 0.02 Da,MS/MS 碎片离子容差为 0.02 Da,以创建共识谱。创建网络时,余弦分数需高于 0.7 且匹配峰数超过 6 个。然后将数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件并显示为节点和边缘的网络。检测到分子的相对丰度可以在每个节点中用饼图进行可视化(颜色对应不同的样品),边缘粗细属性定义为反映余弦相似性,线越粗表示相似性越高^[5]。

2.6 提取与分离 培养结束后,向各培养瓶中加入 250 mL 乙酸乙酯,灭活并进行浸提,过滤,收集浸提液,合并乙酸乙酯相,经减压浓缩后获得乙酸乙酯浸膏 35 g。乙酸乙酯部位经硅胶柱分离,采用二氯甲烷-甲醇(80:1~1:1)梯度洗脱,得到 6 个组分(Fr. 1~Fr. 6)。Fr. 2 (6.2 g) 经 ODS 柱分离,采用甲醇-水(20:80~100:0)梯度洗脱,得到 5 个组分(F. 2-1~F. 2-5),F. 2-2 (1.2 g) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 55:45, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 210、270 nm) 分离,得到

化合物 **1** ($t_R = 15.5$ min, 5.0 mg)、**2** ($t_R = 17.8$ min, 7.2 mg)、**3** ($t_R = 24.2$ min, 8.2 mg) 和 **4** ($t_R = 36.5$ min, 5.5 mg)。Fr. 3 (12.6 g) 经 ODS 柱分离,采用甲醇-水(20:80~100:0)梯度洗脱,得到 6 个组分(F. 3-1~F. 3-6),F. 3-2 (2.7 g) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 62:38, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 210、254 nm) 分离,得到化合物 **9** ($t_R = 16.2$ min, 4.5 mg) 和 **10** ($t_R = 27.5$ min, 13.5 mg); F. 3-3 (1.6 g) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 65:35, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 210、270 nm) 分离,得到化合物 **11** ($t_R = 21.5$ min, 6.5 mg) 和 **12** ($t_R = 35.4$ min, 8.8 mg)。Fr. 4 (15.9 g) 经 ODS 柱分离,采用甲醇-水(20:80~100:0)梯度洗脱,得到 6 个组分(F. 4-1~F. 4-6),F. 4-1 (0.8 g) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 65:35, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 254、325 nm) 分离,得到化合物 **5** ($t_R = 9.8$ min, 14.3 mg)、**6** ($t_R = 14.6$ min, 8.2 mg)、**7** ($t_R = 29.7$ min, 10.5 mg) 和 **8** ($t_R = 36.5$ min, 13.5 mg); F. 4-2 (1.3 g) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 70:30, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 210、306 nm) 分离,得到化合物 **13** ($t_R = 7.0$ min, 17.1 mg)、**14** ($t_R = 13.3$ min, 8.2 mg) 和 **15** ($t_R = 25.5$ min, 6.3 mg); F. 4-3 (5.2 g) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 70:30, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 210、254 nm) 分离,得到化合物 **16** ($t_R = 18.0$ min, 7.3 mg)、**17** ($t_R = 24.3$ min, 12.9 mg) 和 **18** ($t_R = 34.5$ min, 8.9 mg)。

2.7 抗真菌活性研究 采用菌丝生长速率法测定,初步评价化合物在 100、50、25、12.5、6.25 μg/mL 的质量浓度下对木炭炭疽病菌的抑制活性。将不同浓度溶液分别置于培养皿中备用,同时以无菌水 PDA 培养基平板作为空白对照。使用无菌打孔器转移菌丝体,接种于 PDA 培养基平板中央。在 28℃ 条件下恒温培养 3 d 后,以多菌灵为阳性对照,采用十字交叉法测定菌落直径并计算菌丝生长抑制率,公式为菌丝体生长抑制率 = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 菌病直径)] × 100%。以药物浓度对数为横坐标,菌丝生长抑制率为纵坐标进行回归,计算化合物对病原菌株的抑制中浓度(EC₅₀)。数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析后 Duncan 法, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义^[5]。实验平行重复 3 次。

3 结果

3.1 优势培养基筛选 采用 OSMAC 发酵策略, 对 8 种培养基进行筛选, 基于 GNPS 分子网络分析, 并结合 UPLC-DAD-MS/MS 技术联用, 解析不同培养基次级代谢产物化学多样性。由图 1 可知, *Aspergillus sp.* FH-2 菌株在 1 号培养基中的次级代谢产物表现出多样化的保留时间和丰富的色谱峰, 信号强度高, 直接反映了其代谢产物的多样性与高产率。因此, 综合评估所有培养条件, 确定大米培养基为该菌株的优势培养基。

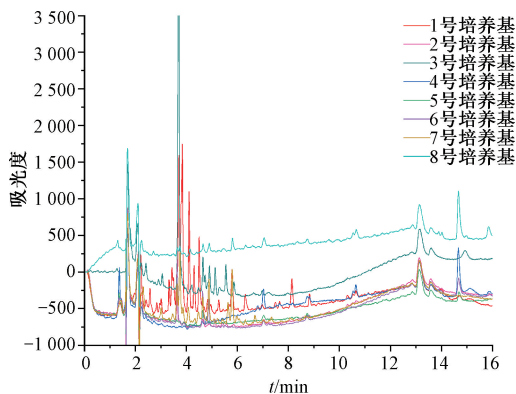


图 1 *Aspergillus sp.* FH-2 菌株次级代谢产物 LC-MS 对比图

Fig. 1 LC-MS comparison of secondary metabolites from *Aspergillus sp.* FH-2 strain

3.2 GNPS 靶向分离 为靶向识别聚酮类化合物富集部位, 以聚酮类化合物 emodin m/z 269.046 3 $[M-H]^-$ 为探针, 与 *Aspergillus sp.* FH-2 大米培养基乙酸乙酯提取物部位的一级流分 (Fr. 1~Fr. 6) 共建 GNPS 分子网络。由图 2 可知, 在 Cluster-1 簇中提示 Fr. 2~Fr. 4 流分存在聚酮类化合物, 包括 347.076 $[M-H]^-$ (1)、303.086 $[M-H]^-$ (3)、315.051 $[M-H]^-$ (7)、329.102 $[M-H]^-$ (12) 和 165.056 $[M-H]^-$ (14) 的准分子离子。

3.3 结构鉴定 化合物 1: 淡黄色粉末, 分子式 $C_{17}H_{16}O_8$, HR-ESI-MS m/z : 347.076 0 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.70 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3), 6.88 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-5), 6.31 (2H, s, H-3', 5'), 4.37 (2H, s, 4'-CH₂OH), 3.66 (3H, s, 6-OCH₃), 3.66 (3H, s, 2-COOCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 128.0 (C-1), 126.5 (C-2), 104.4 (C-3), 156.6 (C-4), 104.1 (C-5), 158.0 (C-6), 200.1 (C-7), 109.9 (C-1'), 161.5 (C-2'/6'), 107.5 (C-3'/5'), 152.4 (C-4'), 166.2 (2-COOCH₃), 63.2 (4'-

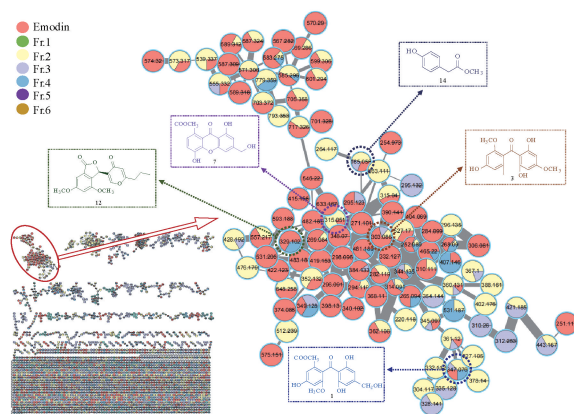


图 1 GNPS 分子网络靶向分离图 (负离子模式)

Fig. 1 GNPS molecular network targeted isolation map (negative ion mode)

CH₂OH), 56.5 (4-OCH₃), 53.2 (1-COOCH₃)。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定化合物 1 为 hydroxysulochrin。

化合物 2: 淡黄色粉末, 分子式为 $C_{18}H_{18}O_7$, HR-ESI-MS m/z : 345.096 8 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.73 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-3), 7.21 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-5), 3.69 (3H, s, 6-OCH₃), 3.70 (3H, s, 2-COOCH₃), 6.50 (1H, s, H-3'), 6.12 (1H, s, H-5'), 2.35 (3H, s, 4'-CH₃), 3.40 (3H, s, 6'-OCH₃), 13.50 (1H, s, 2'-OH); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 128.8 (C-1), 127.6 (C-2), 103.1 (C-3), 156.8 (C-4), 107.8 (C-5), 156.9 (C-6), 167.6 (1-COOCH₃), 56.3 (1-COOCH₃), 200.1 (C-7), 112.2 (C-1'), 164.3 (C-2'), 110.9 (C-3'), 148.3 (C-4'), 104.1 (C-5'), 161.1 (C-6'), 22.8 (4'-CH₃), 55.9 (6'-CH₃), 52.5 (6-OCH₃)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定化合物 2 为 monomethylsulochrin。

化合物 3: 淡黄色粉末, 分子式为 $C_{16}H_{16}O_6$, HR-ESI-MS m/z : 303.086 3 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.75 (3H, s, 2-OCH₃), 6.41 (1H, brs, H-3), 6.39 (1H, brs, H-5), 2.15 (3H, s, 6-CH₃), 5.99 (1H, brs, H-3'), 5.60 (1H, brs, H-5'), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 120.8 (C-1), 158.6 (C-2), 98.0 (C-3), 159.8 (C-4), 110.7 (C-5), 138.3 (C-6), 196.9 (C-7), 106.6 (C-1'), 94.4 (C-3'), 167.2 (C-4'), 94.6 (C-5'), 56.5 (2-OCH₃), 20.3 (6-CH₃), 55.9 (4'-OCH₃)。以上数

据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 griseophenone C。

化合物 **4**: 黄色油状, 分子式为 $C_{14}H_{14}O_3$, HR-ESI-MS m/z : 229.087 2 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.36 (2H, d, $J=2.0$ Hz, H-6, 6'), 6.28 (2H, s, H-4, 4'), 6.20 (2H, t, $J=2.0$ Hz, H-2, 2'), 2.22 (6H, s, 6-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 159.6 (C-1, 1'), 104.2 (C-2, 2'), 159.6 (C-3, 3'), 112.0 (C-4, 4'), 141.6 (C-5, 5'), 111.8 (C-6, 6'), 21.5 (6, 6'-CH₃)。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 diorcinol。

化合物 **5**: 无色粉末, 分子式为 $C_{16}H_{14}O_6$, HR-ESI-MS m/z : 301.072 3 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.31 (2H, s, H-1), 5.43 (1H, s, H-4), 6.86 (1H, s, H-6), 6.88 (1H, s, H-8), 4.02 (3H, s, 7-OCH₃), 3.85 (3H, s, 9-COOCH₃) 2.03 (3H, s, 3-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 64.6 (C-1), 167.6 (C-3), 94.5 (C-4), 101.9 (C-6), 162.3 (C-7), 112.7 (C-8), 134.4 (C-9), 172.7 (C-10), 102.6 (C-11), 160.1 (C-12), 156.5 (C-13), 115.6 (C-14), 21.3 (3-CH₃), 169.5 (9-COOCH₃), 53.5 (9-COOCH₃), 56.4 (7-OCH₃)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为 diaporchromone B。

化合物 **6**: 黄色粉末, 分子式为 $C_{16}H_{14}O_7$, HR-ESI-MS m/z : 317.066 9 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.21 (2H, s, H-1), 6.25 (1H, d, $J=1.0$ Hz, H-4), 6.92 (1H, s, H-8), 3.98 (3H, s, 7-OCH₃), 3.95 (3H, s, 9-COOCH₃), 2.30 (3H, d, $J=1.0$ Hz, 3-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 63.4 (C-1), 164.7 (C-3), 114.5 (C-4), 136.7 (C-6), 149.6 (C-7), 107.2 (C-8), 121.2 (C-9), 176.5 (C-10), 113.6 (C-11), 155.3 (C-12), 145.3 (C-13), 109.4 (C-14), 168.2 (9-COOCH₃), 53.2 (9-COOCH₃), 20.1 (3-CH₃), 56.6 (7-OCH₃)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为 diaporchromone B。

化合物 **7**: 黄色粉末, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_7$, HR-ESI-MS m/z : 315.051 2 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.75 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-2), 6.99 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-4), 7.62 (1H,

d, $J=9.1$ Hz, H-7), 7.49 (1H, d, $J=9.1$ Hz, H-8), 4.60 (2H, s, H-15), 3.85 (3H, s, 9-COOCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 161.2 (C-1), 116.4 (C-2), 148.6 (C-3), 104.2 (C-4), 154.6 (C-6), 117.9 (C-7), 107.8 (C-8), 126.1 (C-9), 181.2 (C-10), 106.4 (C-11), 152.7 (C-12), 155.5 (C-13), 120.5 (C-14), 62.5 (C-15), 167.6 (9-COOCH₃), 53.5 (9-COOCH₃)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为 sydowninol。

化合物 **8**: 黄色粉末, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_6$, HR-ESI-MS m/z : 299.056 2 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.80 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-2), 7.10 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-4), 7.51 (1H, dd, $J=8.5, 1.2$ Hz, H-6), 7.90 (1H, dd, $J=10.0, 8.5$ Hz, H-7), 7.78 (1H, dd, $J=10.0, 1.5$ Hz, H-8), 4.70 (2H, s, H-15), 3.95 (3H, s, 9-COOCH₃), 5.56 (1H, brs, 1-OH); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 162.9 (C-1), 109.4 (C-2), 155.1 (C-3), 105.3 (C-4), 124.5 (C-6), 134.4 (C-7), 120.2 (C-8), 136.5 (C-9), 181.2 (C-10), 108.6 (C-11), 157.7 (C-12), 157.6 (C-13), 118.6 (C-14), 53.6 (C-15), 171.5 (9-COOCH₃), 65.2 (9-COOCH₃)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为 sydownin A。

化合物 **9**: 黄色粉末, 分子式为 $C_{12}H_{10}O_2$, HR-ESI-MS m/z : 185.061 0 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.69 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-2), 6.27 (1H, dd, $J=6.0, 2.5$ Hz, H-3), 6.15 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-5), 3.82 (2H, m, H-7), 7.34 (2H, m, H-10, 12), 7.26 (2H, m, H-9, 13), 7.35 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-11); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 155.5 (C-2), 116.7 (C-3), 179.4 (C-4), 115.6 (C-5), 167.9 (C-6), 41.2 (C-7), 134.1 (C-8), 130.1 (C-9, 13), 127.5 (C-11), 128.9 (C-10, 12)。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为 aspergillone。

化合物 **10**: 黄色粉末, 分子式为 $C_{13}H_{11}NO_3$, HR-ESI-MS m/z : 228.066 9 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.78 (1H, s, H-2), 6.28 (1H, s, H-5), 3.92 (2H, s, H-7), 7.29 (1H, s, H-9), 7.41 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-10), 7.35 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-11), 7.37 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-12), 7.27 (1H, d, $J=6.5$ Hz, H-13); ¹³C NMR

(100 MHz, CDCl_3) δ : 155.6 (C-2), 116.4 (C-3), 179.9 (C-4), 115.6 (C-5), 168.5 (C-6), 41.2 (C-7), 134.9 (C-8), 130.2 (C-9/13), 130.1 (C-10/12), 127.8 (C-11), 169.0 (C-14)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为 carbonarone A。

化合物 **11**: 白色粉末, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$, HR-ESI-MS m/z : 301.072 5 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.98 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3), 6.71 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-5), 6.45 (1H, s, H-8), 6.24 (1H, s, H-11), 7.50 (1H, s, H-14), 2.31 (3H, s, H-15), 3.80 (3H, s, 4-OCH₃), 3.85 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 169.8 (C-1), 129.6 (C-2), 99.3 (C-3), 163.5 (C-4), 105.4 (C-5), 155.6 (C-6), 127.5 (C-7), 73.6 (C-8), 123.1 (C-9), 177.9 (C-10), 115.6 (C-11), 166.5 (C-12), 154.7 (C-14), 19.7 (C-15), 56.4 (4-OCH₃), 56.5 (6-OCH₃)。以上数据与文献 [20] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为 penisimplicissin。

化合物 **12**: 白色粉末, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$, HR-ESI-MS m/z : 329.103 0 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.92 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3), 6.72 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-5), 6.51 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, s, H-11), 7.47 (1H, s, H-14), 2.52 (2H, t, $J=7.6$ Hz, H-15), 1.67 (2H, qt, $J=7.2, 7.6$ Hz, H-16), 0.99 (3H, t, $J=7.6$ Hz, H-17), 3.80 (3H, s, 4-OCH₃), 3.88 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 169.8 (C-1), 129.1 (C-2), 99.4 (C-3), 163.7 (C-4), 105.6 (C-5), 154.3 (C-6), 127.3 (C-7), 74.1 (C-8), 123.6 (C-9), 178.4 (C-10), 114.4 (C-11), 169.6 (C-12), 155.5 (C-14), 35.9 (C-15), 19.8 (C-16), 14.2 (C-17), 56.6 (4-OCH₃), 56.1 (6-OCH₃)。以上数据与文献 [21] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为 dihydrovermistatin。

化合物 **13**: 白色粉末, 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$, HR-ESI-MS m/z : 151.038 6 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.12 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 3.39 (2H, s, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 156.7 (C-1), 116.6 (C-2, 6), 131.8 (C-3, 5), 127.8 (C-4), 42.2 (C-7), 172.9 (C-8)。以上数据与文献 [22] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **13**

为 3-methyl-orsellinic acid。

化合物 **14**: 黄色粉末, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$, HR-ESI-MS m/z : 165.056 0 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.11 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 6.73 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 3.70 (2H, s, H-7), 3.61 (3H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 156.8 (C-1), 116.4 (C-2/6), 131.2 (C-3/5), 127.8 (C-4), 42.9 (C-7), 173.2 (C-8), 53.3 (C-9)。以上数据与文献 [23] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **14** 为对羟基苯乙酸甲酯。

化合物 **15**: 黄色粉末, 分子式为 $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3$, HR-ESI-MS m/z : 139.039 0 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.81 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3), 6.52 (1H, dd, $J=8.8, 2.0$ Hz, H-4), 6.42 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 2.62 (3H, s, 8-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 167.1 (C-1), 114.6 (C-2), 132.9 (C-3), 107.5 (C-4), 164.8 (C-5), 103.8 (C-6), 201.9 (C-7), 26.6 (8-CH₃)。以上数据与文献 [24] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **15** 为 2, 4-二羟基苯乙酮。

化合物 **16**: 白色粉末, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$, HR-ESI-MS m/z : 181.051 6 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.32 (1H, s, H-2), 2.12 (3H, s, H-8), 2.51 (3H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.8 (C-1), 105.6 (C-2), 141.4 (C-3), 111.7 (C-4), 164.4 (C-5), 109.5 (C-6), 175.6 (C-7), 8.1 (C-8), 24.7 (C-9)。以上数据与文献 [25] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **16** 为 2, 4-dihydroxy-3, 6-dimethylbenzoic acid。

化合物 **17**: 白色粉末, 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$, HR-ESI-MS m/z : 137.061 6 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.25 (2H, s, H-2, 4), 2.17 (3H, s, H-7), 1.87 (3H, s, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 156.8 (C-1), 108.8 (C-2), 136.4 (C-3), 108.5 (C-4), 156.9 (C-5), 108.8 (C-6), 21.4 (C-7), 8.8 (C-8)。以上数据与文献 [26] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **17** 为 2, 5-dimethylbenzene-1, 3-diol。

化合物 **18**: 白色粉末, 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, HR-ESI-MS m/z : 167.043 4 $[\text{M-H}]^-$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.20 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2), 6.39 (1H, s, H-6), 2.52 (3H, s, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.4 (C-1), 101.1 (C-2),

166.5 (C-3), 112.2 (C-4), 145.2 (C-5), 112.6 (C-6), 174.2 (C-7), 23.8 (C-8)。以上数据与文献 [27] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **18** 为 2, 4-dihydroxy-6-methylbenzoic acid。

3.4 抗真菌活性 由表 1 可知, 化合物 **1~3**、**5~8** 和 **11~14** 对木瓜炭疽杆菌均表现出抑制作用, 其中化合物 **1~3** 的抑制活性高于阳性药多菌灵。化合物 **4**、**9~10** 和 **15~18** 对木瓜炭疽杆菌未表现出抑制活性。

表 1 化合物 **1~18** 的 EC₅₀ 值 (μg/mL, $\bar{x} \pm s$, n=3)

Tab.1 The EC₅₀ values of compounds **1-18** (μg/mL, $\bar{x} \pm s$, n=3)

化合物	EC ₅₀ 值	化合物	EC ₅₀ 值
1	36.54±1.26b	11	54.36±0.17d
2	47.12±0.49c	12	66.63±0.15d
3	26.21±0.13a	13	70.34±0.29f
4	>100	14	85.69±1.35f
5	79.98±0.56e	15	>100
6	63.84±1.25e	16	>100
7	88.25±0.29e	17	>100
8	77.62±1.18f	18	>100
9	>100	多菌灵	49.58±0.10c
10	>100		

注: 不同字母表示组间差异具有统计学意义 (P<0.05)。

4 讨论

本研究通过整合 OSMAC 策略与 GNPS 分子网络技术, 对缬草内生真菌 *Aspergillus sp.* FH-2 中聚酮类成分进行了高效挖掘。OSMAC 策略通过改变培养条件, 有效激活了菌株中原本“沉默”的生物合成基因簇, 从而实现了其代谢产物化学多样性的“开源”; GNPS 分子网络技术对复杂的发酵产物进行快速去重复化与可视化聚类分析, 为聚酮类化合物的靶向分离提供了精准“导航”。在这种“开源”与“导航”相结合的协同策略下, 成功分离得到 18 个化合物, 其中化合物 **3~7**、**11~12** 为首次从曲霉属真菌中分离得到, **1**、**8~10**、**13~15** 为首次从该菌株中分离得到。更重要的是, 其揭示的化学多样性显示曲霉属真菌代谢潜能巨大, 提示宿主植物的特殊微环境可能对其内生菌的次生代谢途径具有独特的调控与诱导作用。

抗真菌活性研究显示, 化合物 **1~3** 对木瓜炭疽病菌的抑制活性显著优于阳性对照药多菌灵。在当前化学农药抗性日益严峻的背景下, 这些结构新颖且活性优异的分子, 为开发环境友好的新型生物农药提供了极具潜力的先导化合物。综上所述, 本研究不仅为曲霉属真菌的化学成分库贡献了

新成员, 更发掘了具有实际应用前景的抗真菌活性分子。这些先导化合物的构效关系、作用机制及其生物合成途径值得深入研究, 以推动新一代生物农药的研发进程。

致谢: 感谢广州中医药大学张翠仙教授课题组提供菌株培养条件及方法。

参考文献:

[1] de Oliveira F J G, Silva G D C, Cipriano L, et al. Control of postharvest fungal diseases in fruits using external application of RNAi[J]. *J Food Sci*, 2021, 86(8): 3341-3348.

[2] 庞宏宇, 祝 愿, 王晓鹭, 等. 植物源性食品中多菌灵应用现状及其在农产品中的风险评估研究进展[J]. *农业灾害研究*, 2023, 13(4): 4-6.

[3] Jing P F, Wang H N, Tan Z, et al. Antifungal mechanism of bacillomycin D from *Bacillus velezensis* HN-2 against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz[J]. *Pestic Biochem Phys*, 2020, 163: 102-107.

[4] Silva-Beltrán N P, Boon S A, Ijaz M K, et al. Antifungal activity and mechanism of action of natural product derivatives as potential environmental disinfectants[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2023, 50(1): kuad036.

[5] Fan H, Shao X H, Zhang C X, et al. Exploring the brominated aromatic butenolides from the *Aspergillus terreus* EGF7-0-1 with their antifungal activities[J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72: 19869-19882.

[6] 樊 浩, 李玉泽, 严淑婷, 等. 缬草化学成分的研究[J]. *中成药*, 2020, 42(11): 2930-2934.

[7] Li S W, Xue B X, Yang T T, et al. Sesquiterpenoids and monoterpenoids from the water decoction of *Valeriana officinalis* L. [J]. *Phytochemistry*, 2023, 205: 113474.

[8] Amr K, Ibrahim N, Elissawy A M, et al. Unearthing the fungal endophyte *Aspergillus terreus* for chemodiversity and medicinal prospects: a comprehensive review[J]. *Fungal Biol Biotechnol*, 2023, 10(1): 6.

[9] Sadowska A, Osiński P, Roztocka A, et al. Statins-from fungi to pharmacy[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 25(1): 466.

[10] Niño-Vega G A, Padró-Villegas L, López-Romero E. New ground in antifungal discovery and therapy for invasive fungal infections: innovations, challenges, and future directions[J]. *J Fungi (Basel)*, 2024, 10(12): 871.

[11] 张晓勇, 赵 婷, 农旭华. 南沙石珊瑚来源真菌 *Aspergillus terreus* SCAU139 的聚酮类代谢产物研究[J]. *广西科学*, 2020, 27(5): 552-557.

[12] Zhang H C, Liu R, Zhou F, et al. Antimicrobial metabolites from the endophytic fungus *Aspergillus sp.* of *Eucommia ulmoides*[J]. *Chem Nat Compd*, 2014, 50(3): 526-528.

[13] 刘 涛, 李占林, 王 宇, 等. 海洋来源真菌中二个聚酮类化合物的 NMR 研究[J]. *化学与生物工程*, 2012, 29(5): 81-84.

[14] Tian Y Q, Lin X P, Liu J, et al. Ascomycotin A, a new

- citromyctin analogue produced by *Ascomycota* sp. Ind19F07 isolated from deep sea sediment[J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(9): 820-826.
- [15] 胡彩云, 李赛妮, 陈玉婵, 等. 深海真菌 *Diaporthe phaseolorum* FS459 的聚酮类化合物研究 (英文) [J]. 有机化学, 2021, 41(4): 1591-1598.
- [16] Goddard M L, Mottier N, Jeanneret-Gris J, et al. Differential production of phytotoxins from *Phomopsis* sp. from grapevine plants showing esca symptoms[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(34): 8602-8607.
- [17] 司徒, 倪娜, 刘孟珊, 等. 1株黄河三角洲来源杂色曲霉 *A. versicolor* BHT-72 的次级代谢产物研究[J]. 中国海洋药物, 2023, 42(1): 31-36.
- [18] Padhi S, Masi M, Panda S K, et al. Antimicrobial secondary metabolites of an endolichenic *Aspergillus niger* isolated from lichen thallus of *Parmotrema ravum*[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(18): 2573-2580.
- [19] Zhang Y P, Zhu T, Fang Y C, et al. Carbonarones A and B, new bioactive gamma-pyrone and alpha-pyridone derivatives from the marine-derived fungus *Aspergillus carbonarius*[J]. *J Antibiot*, 2007, 60(2): 153-157.
- [20] Komai S I, Hosoe T, Itabashi T, et al. New vermistatin derivatives isolated from *Penicillium simplicissimum*[J]. *Heteroeyeles*, 2005, 65(11): 2771-2776.
- [21] 邹庭光, 薛楷聪, 朱静琳, 等. 海南东寨港秋茄内生真菌 *Penicillium* sp. KF22 聚酮类次级代谢产物研究[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(19): 1557-1562.
- [22] 吴斌, 吴立军, 张磊, 等. 麻叶千里光抗菌化学成分的研究 (I) [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 341-345.
- [23] 许进业, 许凤清, 孔垂皓, 等. 粉防己根的化学成分及抗肝纤维化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2050-2055.
- [24] 夏雪奎, 齐君, 刘昌衡, 等. 仿刺参共附生真菌 *Aspergillus terreus* 来源的聚酮类化合物的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(4): 10-14; 62.
- [25] Pobolevskaya M P, Zhuravleva O I, Leshchenko E V, et al. New metabolites from the alga-derived fungi *Penicillium thomii* Maire and *Penicillium lividum* Westling[J]. *Phytochem Lett*, 2016, 15: 7-12.
- [26] 肖泽恩, 黄锡山, 韦蔚烜, 等. 北海红树林内生真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD00016 的抗炎次级代谢产物[J]. 中山大学学报 (自然科学版) (中英文), 2022, 61(6): 69-73.
- [27] Lopes T I, Coelho R G, Yoshida N C, et al. Radical-scavenging activity of orsellinates[J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56(11): 1551-1554.

石仙桃假鳞茎乙酸乙酯部位化学成分及其黑色素抑制活性研究

李琴¹, 郁阳^{1,2,3}, 蔡百祥^{1,2*}, 王举涛^{1,2*}

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽合肥 230012; 2. 安徽省活性天然产物重点实验室, 安徽合肥 230012; 3. 食药菌功能活性与资源利用安徽省联合共建学科重点实验室, 安徽合肥 230012)

摘要: 目的 研究石仙桃 *Pholidota chinensis* Lindl. 假鳞茎乙酸乙酯部位的化学成分及其黑色素抑制活性。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶、薄层色谱及半制备 HPLC 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。采用 NaOH 裂解法检测化合物对 B16F10 细胞黑色素生成的抑制作用。结果 从中分离得到 10 个单体化合物, 分别鉴定为石仙桃烯酸 A (1)、3, 3', 5-三甲氧基联苳 (2)、3, 3', 5-三甲氧基联苳 (3)、coeloginin (4)、ochrolide (5)、石仙桃菲 (6)、3, 3'-二羟基-5-甲氧基二苯乙烯 (7)、3, 4'-二羟基-2', 3', 5-三甲氧基二苯乙烯 (8)、3-羟基-5-甲氧基二苯乙烯 (9)、4, 7-二羟基-2, 3, 6-三甲氧基菲 (10)。化合物 2~10 干预后, B16F10 细胞的黑色素含量为 (66.82±0.93)% ~ (134.00±3.16)%。结论 化合物 1 为新的烯酸类衍生物, 2~10 为芪类, 4~5 为首次从石仙桃属植物中分离获得。化合物 2~3 具有显著黑色素抑制活性, 5~10 的抑制活性与阳性药熊果苷相当。

关键词: 石仙桃; 假鳞茎; 乙酸乙酯部位; 化学成分; 分离鉴定; 芪类; 黑色素抑制活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0851-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.020

收稿日期: 2025-12-04

基金项目: 安徽中医药大学校级人才支持计划 (2023rczd008)

作者简介: 李琴, 女, 硕士在读, 从事中药化学成分研究。E-mail: 2241444749@qq.com

* 通信作者: 蔡百祥, 男, 博士, 讲师, 从事中药药效物质基础与质量评价研究。E-mail: caibx@ahcm.edu.cn

王举涛, 男, 教授, 硕士生导师, 从事中药化学成分与品质评价研究。E-mail: wjt591@ahcm.edu.cn