

## • 化学成分 •

## 杭白芷中 1 个新的呋喃香豆素二聚体

凌鸽雨<sup>1,2</sup>, 温建牛<sup>1,2</sup>, 王 阳<sup>1,2</sup>, 樊江平<sup>1,2</sup>, 侯 婕<sup>1,2</sup>, 张雨路<sup>1,2</sup>, 史社坡<sup>1,2\*</sup>

1. 北京中医药大学, 北京中医药研究院, 中药现代研究中心, 北京 102488

2. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488

**摘要:** 目的 研究杭白芷 *Angelica dahurica* var. *formosana* 中微量的呋喃香豆素二聚体类化学成分。方法 以 LC-MS 分析为导向, 利用硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱及半制备液相色谱等进行分离纯化, 结合 NMR 等谱学技术对分离得到的香豆素二聚体进行结构鉴定, 并对分离得到的化合物进行乙酰胆碱酯酶抑制活性筛选。结果 从杭白芷乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位分离得到 3 个香豆素二聚体, 分别为 9-[[4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-7-氧代-7H-呋喃并[3,2-g]色烯-9-基]氧基]-4-[(2-甲基丁-3-烯-2-基)氧基]-7H-呋喃并[3,2-g]色烯-7-酮 (1)、dahuribiethrin E (2)、dahuribiethrin B (3)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为白芷双香豆素 A; 化合物 2 和 3 为首次从杭白芷中分离得到, 化合物 2 对乙酰胆碱酯酶具有抑制活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值为 (71.37 ± 1.26) μmol/L。

**关键词:** 杭白芷; 呋喃香豆素; 香豆素二聚体; LC-MS; 乙酰胆碱酯酶抑制活性; 白芷双香豆素 A; dahuribiethrin E

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)12-4522-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.12.002

A new furanocoumarin dimer from *Angelica dahurica* var. *formosana*

LING Geyu<sup>1,2</sup>, WEN Jianni<sup>1,2</sup>, WANG Yang<sup>1,2</sup>, FAN Jiangping<sup>1,2</sup>, HOU Jie<sup>1,2</sup>, ZHANG Yulu<sup>1,2</sup>, SHI Shepo<sup>1,2</sup>

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

**Abstract: Objective** To investigate the trace amounts of furanocoumarin dimers from *Angelica dahurica* var. *formosana*. **Methods** Using an LC-MS guided separation method, the furanocoumarin dimers were isolated by silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography, and semi-preparative HPLC. The structures of the isolated dimeric coumarins were identified by NMR spectroscopy, and their preliminarily acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activities were evaluated. **Results** Three furanocoumarin dimers were isolated from the ethyl acetate fraction of the ethanol extract of *A. dahurica* var. *formosana*, namely 9-[[4-(3-methylbut-2-en-1-yl)-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-9-yl]oxy]-4-[(2-methylbut-3-en-2-yl)oxy]-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one (1), dahuribiethrin E (2) and dahuribiethrin B (3). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, namely dahuribiscoumarin A. Compounds 2 and 3 are isolated from *A. dahurica* var. *formosana* for the first time. Compound 2 exhibits acetylcholinesterase inhibitory activity with a median inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) value of (71.37 ± 1.26) μmol/L.

**Key words:** *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan; furanocoumarin; coumarin dimer; LC-MS; acetylcholinesterase inhibitory activity; dahuribiscoumarin A; dahuribiethrin E

白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook.f. 或杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根, 呈

长圆锥形, 面灰棕色或黄棕色, 主产于浙江杭州、四川遂宁、河南禹州、河北安国等地。白芷是一种临床常用的辛温解表药, 具有解表散寒、祛风止痛、宣通鼻窍、燥湿止带、消肿排脓的功效<sup>[1]</sup>。在化学

收稿日期: 2026-03-09

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (7202125)

作者简介: 凌鸽雨, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分的发现及生物合成研究。E-mail: lgy031144@yeah.net

\*通信作者: 史社坡, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药活性成分的发现及合成生物学研究。E-mail: shishepo@163.com

成分上,白芷富含香豆素<sup>[2]</sup>、挥发油<sup>[3]</sup>、黄酮<sup>[4]</sup>、多糖<sup>[5]</sup>及生物碱<sup>[6]</sup>等成分。其中,香豆素类成分尤为丰富,截至目前已经从中分离鉴定出150多个化合物,涵盖呋喃香豆素、香豆素苷、简单香豆素、香豆素二聚体等<sup>[7]</sup>。这些结构多样、种类丰富的香豆素类成分是白芷的主要药效物质,具有镇痛<sup>[8]</sup>、抗炎<sup>[9-10]</sup>、美白<sup>[11]</sup>、降血糖<sup>[12]</sup>和乙酰胆碱酯酶抑制活性<sup>[13]</sup>等多种活性。因此,白芷在医药、食品和化妆品等领域应用广泛<sup>[14]</sup>。

本课题组先后对白芷、杭白芷进行了较系统的化学成分研究,成功从白芷及杭白芷中分离鉴定出多个呋喃香豆素<sup>[15-16]</sup>、香豆素二聚体<sup>[17-18]</sup>、生物碱等<sup>[6,19]</sup>。在前期研究中,发现杭白芷中的香豆素二聚体类成分结构新颖,但因含量低而在分离过程中难以获得。因此,本研究采用LC-MS导向分离策略,结合硅胶、凝胶、制备液相色谱等分离纯化技术,对杭白芷乙醇提取物中的香豆素二聚体类成分进行定向分离鉴定,结果从其醋酸乙酯萃取部位分离鉴定出3个香豆素二聚体,分别为9-[[4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-7-氧代-7H-呋喃并[3,2-g]色烯-9-基]氧基]-4-[(2-甲基丁-3-烯-2-基)氧基]-7H-呋喃并[3,2-g]色烯-7-酮(9-[[4-(3-methylbut-2-en-1-yl)-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-9-yl]oxy]-4-[(2-methylbut-3-en-2-yl)oxy]-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one, **1**)、dahuribiethrin E (**2**)、dahuribiethrin B (**3**)。其中化合物**1**为新的线性呋喃香豆素二聚体,命名为白芷双香豆素A;化合物**2**和**3**为首次从杭白芷中分离获得的已知香豆素二聚体,化合物**2**对乙酰胆碱酯酶具有抑制活性,半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>)值为(71.37±1.26) μmol/L。

## 1 仪器与材料

高效液相离子阱飞行时间质谱分析系统IT-TOF-MS(日本Shimadzu公司)、LC-20AT型半制备型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司)、Varian Inova-500型核磁共振仪(美国Varian公司)、Autopol IV全自动旋光仪(美国Rudolf公司)、UV-2401PC紫外分光光度计(日本Shimadzu公司)、EnSpire型多功能酶标仪(美国PerkinElmer公司)。XDB C<sub>18</sub>分析型色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); YMC ODS-A制备型色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm); Sephadex LH-20填料(瑞典Amerasham Biosciences公司); ODS 柱色谱填料(Li-Chroprep RP-C<sub>18</sub>, 40~63 μm, 德国Merck公司); D101大孔树脂(中国

青岛海洋化工有限公司); 柱色谱硅胶(200~300目, 中国青岛海洋化工有限公司); 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)[5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), DTNB, 美国AbMole公司]; 碘化硫代乙酰胆碱(acetylthiocholine iodide, ATCI, 北京索莱宝科技有限公司)。

杭白芷药材购买自河北安国药材市场,经北京中医药大学中药现代研究中心史社坡研究员鉴定为伞形科植物杭白芷*A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan的干燥根,标本(SPSHI-ADB-201912)存放于北京中医药大学中药现代研究中心。

## 2 方法

### 2.1 分析条件

液相分析条件: Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 体积流量为1 mL/min, 检测波长为254 nm。

萃取部位液相分析条件: 流动相为水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~15 min, 80%~60%B; 15~20 min, 60%B; 20~25 min, 60%~50%B; 25~30 min, 50%~15%B; 30~35 min, 15%B~100%A; 35~40 min, 100%A), 进样量10 μL。

Fr. C6b3 流分分析条件: 洗脱条件(0~25 min, 5%~100%B; 25~29 min, 100%B; 29~32 min, 100%~5%B), 进样量为15 μL。

Fr. F4d6 流分分析条件: 洗脱条件(0~40 min, 20%~70%B; 40~45 min, 70%~95%B; 40~50 min, 95%B), 进样量为15 μL。

质谱检测条件: 电喷雾电离源ESI, 正离子检测模式; 质量扫描范围*m/z* 150~1 000; 雾化气压为240 kPa, 干气体积流量为12.00 mL/min, 电喷雾离子源电压为3 000 V, 毛细管温度为350 °C, 毛细管出口电压为121 V, 分离器电压为40 V, 碰撞能量为1 V。

### 2.2 提取与分离

杭白芷药材50 kg粉碎后过筛,加入其6倍体积95%乙醇溶液浸泡过夜。加热回流提取2次,每次3 h。药渣用6倍量70%乙醇溶液提取2次,每次3 h。合并提取液浓缩处理,得4.2 kg杭白芷总浸膏。将该浸膏用水混悬后依次用石油醚、醋酸乙酯萃取,剩余即为水部位。各部位经减压浓缩后得水相提取物2 420 g、醋酸乙酯萃取物823 g以及石油醚萃取物850 g。

取各部位适量进行LC-MS分析,将富含香豆

素二聚体的醋酸乙酯萃取物通过硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱等进行分离,以 LC-MS 分析为导向,对含有香豆素二聚体的流分进行合并,最后用半制备液相色谱纯化。醋酸乙酯提取物先经硅胶柱色谱分离,依次以石油醚-醋酸乙酯(10:1→0:1)和二氯甲烷-甲醇(20:1→0:1)梯度洗脱,得到9个流分 Fr. A~I; 含香豆素二聚体的 Fr. C (34.4 g) 继续经硅胶柱色谱分离,以石油醚-醋酸乙酯(10:1→0:1),二氯甲烷-甲醇(10:1→0:1)梯度洗脱得到8个流分 Fr. C1~C8; Fr. C6 (8.0 g) 经葡聚糖凝胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(3:1)洗脱得到5个流分 Fr. C6a~C6e; Fr. C6b (350.0 mg) 再次经葡聚糖凝胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(3:1)洗脱得到5个流分 Fr. C6b1~C6b5, 其中 Fr. C6b3 (23.4 mg) 中含香豆素二聚体经半制备液相进行分离纯化(YMC ODS-A 色谱柱, 250 mm×10 mm, 5 μm; 流动相 60%乙腈)获得化合物 1 (4.0 mg,  $t_R=60$  min)。

含香豆素二聚体的流分 Fr. F (24.1 g) 经硅胶柱色谱分离,以石油醚-醋酸乙酯(20:1→0:1)梯度洗脱,得到7个流分 Fr. F1~F7, 流分 Fr. F4 (2.1 g) 经葡聚糖凝胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(2:1)洗脱,得到5个流分 Fr. F4a~F4e, 流分 Fr. F4d (1.4 g) 经反相 ODS 柱色谱,以甲醇-水(3:7→0:1)梯度洗脱,得到7个流分 Fr. F4d1~F4d7。其中含有香豆素二聚体的流分 Fr. F4d6 (62.5 mg) 经半制备液相色谱分离纯化(YMC ODS-A 色谱柱, 250 mm×10 mm, 5 μm; 流动相 63%乙腈)得到化合物 2 (3.0 mg,  $t_R=21.5$  min) 和 3 (5.7 mg,  $t_R=24.0$  min)。

### 2.3 乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 抑制活性筛选

药物组中化合物 1~3 的终浓度分别为 100、50、25、12.5、6.25 μmol/L (以 PBS 缓冲液配制), 空白组和空白对照组每孔加入 50 μL PBS 缓冲液, 各组均设 3 个平行重复, 以石杉碱甲为阳性对照组。每孔加入 50 μL 浓度为 0.1 U/mL 的 AChE 溶液, 空白对照组加入 50 μL PBS, 37 °C 恒温培养箱中孵育 30 min。

以上各组均设 3 个平行复孔, 以石杉碱甲为阳性药物。其中, 药物对照组以等量 PBS 缓冲液替代 AChE 溶液; 空白组以等量 PBS 缓冲液替代药物溶液; 空白对照组以等量 PBS 缓冲液替代药物和 AChE 溶液。

反应结束后, 依次加入 50 μL 浓度为 0.6 mmol/L 的 DTNB 和 50 μL 浓度为 0.6 mmol/L 的 ACTI, 继续在 37 °C 孵育 30 min。反应结束后, 在酶标仪 405

nm 波长处测定各孔吸光度 ( $A$ ) 值, 计算化合物的 IC<sub>50</sub>, AChE 抑制率 ( $I$ ) 按照公式计算。

$$I = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{背景}})$$

$A_{\text{样品}}$  为药物组  $A$  值;  $A_{\text{对照}}$  为药物对照组  $A$  值;  $A_{\text{空白}}$  为空白组  $A$  值;  $A_{\text{背景}}$  为空白对照组  $A$  值

## 3 结果

### 3.1 LC-MS 导向分离杭白芷中的香豆素二聚体

白芷中的香豆素二聚体相对分子质量多在 500~600, 其结构中含有的  $C$ -异戊烯基、 $O$ -异戊烯基、甲氧基等基团取代, 在其二级质谱中可观察到一系列特征碎片, 且香豆素母核也容易出现连续的丢失 CO 等特征碎片, 因此具有极高的辨识度。

利用 LC-MS 对萃取部位进行分析发现香豆素二聚体主要出现在醋酸乙酯部位中, 且这些二聚体在色谱柱上保留时间相对靠后, 本研究的分析条件下, 二聚体主要出现在保留时间 30~35 min (图 1)。以 LC-MS 分析为导向, 对各个柱色谱流分中进行分析合并, 最后获得含有二聚体的流分 Fr. C6b3 和 Fr. F4d6 (图 1), 经半制备液相色谱进一步分离纯化共得到 3 个香豆素二聚体 1 (4.0 mg)、2 (3.0 mg)、3 (5.7 mg)。其中, Fr. F4d6 中的峰 4~7 经质谱预测仍为香豆素二聚体信号, 由于含量过低, 未能分离得到。

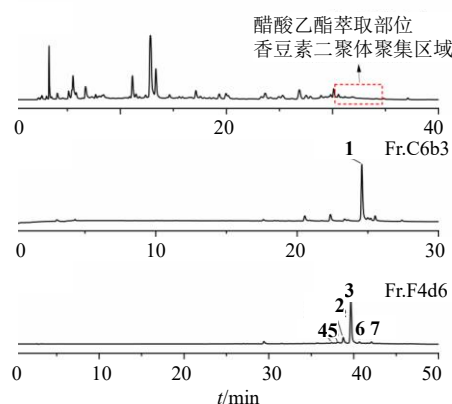


图 1 醋酸乙酯萃取部位和 Fr. C6b3 和 Fr. F4d6 流分的液相色谱图

Fig. 1 Liquid chromatograms of ethyl acetate fraction, Fr. C6b3 and Fr. F4d6

### 3.2 化合物结构鉴定

化合物 1: 淡黄色粉末; HR-ESI-MS  $m/z$ : 561.148 5 [M+Na]<sup>+</sup> (C<sub>32</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>Na 计算值 561.152 0), 分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>, 不饱和度为 20。UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (nm): 225, 263, 312。IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3 411, 2 925, 2 857, 1 696, 1 606, 1 433, 1 381, 1 295, 1 064, 1 043, 其中 1 606,

1 433 cm<sup>-1</sup> 提示化合物 **1** 中存在苯环, 1 696 cm<sup>-1</sup> 提示存在酯羰基。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 中, 显示 4 个甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  1.86 (3H, s, H-16), 1.73 (3H, s, H-17), 1.59 (3H, s, H-16'), 1.59 (3H, s, H-17')], 1 个亚甲基信号 [ $\delta_{\text{H}}$  3.77 (2H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-13)], 12 个芳氢和烯氢信号 [ $\delta_{\text{H}}$  8.38 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 8.02 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 7.50 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-11), 7.30 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-11'), 6.85 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-12), 6.40 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 6.40 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3'), 5.70 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-12'), 6.29 (1H, dd,  $J = 17.5, 10.8$  Hz, H-14'), 5.15 (1H, brd,  $J = 17.5$  Hz, H-15'a), 5.03 (1H, brd,  $J = 10.8$  Hz, H-15'b), 5.15 (1H, m, H-14)]。 <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 谱图显示 32 个碳信号, 包括 4 个甲基碳、1 个 sp<sup>3</sup> 杂化的仲碳、1 个 sp<sup>3</sup> 杂化的连氧季碳、24 个 sp<sup>2</sup> 杂化的烯碳、2 个羰基碳。进一步, 通过分析其 2D-NMR 谱图, 对化合物 **1** 所有碳氢信号进行归属 (表

1)。其 NMR 数据和别欧前胡素具有高度拟合信号, 和异去甲呋喃羽叶芸香素具有相似信号<sup>[20]</sup>, 提示化合物 **1** 可能是由以上 2 个呋喃香豆素形成的二聚体。

结合 HMBC 谱中 H-13 与 C-5、C-10、C-14、C-15 说明异戊烯基以 C-C 键连接在线型呋喃香豆素的 C-5 位。HMBC 谱中 H-15' 与 C-13', H-16'、H-17' 与 C-13'、C-14' 的相关信号, 以及 H-14' 与 H-15'a/H-15'b 的偶合常数 (典型末端双键烯氢信号) 说明化合物 **1** 中存在 2-甲基-3-丁烯-2-氧基 (reverse prenyl)。NOESY 谱中观察到 H-12' 与 H<sub>3</sub>-16' 之间的 NOE 相关, 说明 2-甲基-3-丁烯-2-氧基连接在 C-5' 而非 C-8'。根据化合物 **1** 的分子式及不饱和度 20, 判断 2 个呋喃香豆素单元的 8 与 8' 位通过醚键相连, 为 1 个新的香豆素二聚体, 为 9-[[4-(3-甲基丁-2-烯-1-基)-7-氧代-7*H*-呋喃并[3,2-*g*]色烯-9-基]氧基]-4-[(2-甲基丁-3-烯-2-基)氧基]-7*H*-呋喃并[3,2-*g*]色烯-7-酮, 命名为白芷双香豆素 A (图 2)。

表 1 化合物 1 的 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据 (400/100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Table 1 <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR data of compound 1 (400/100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2		159.7	3'	6.40 (1H, d, $J = 9.8$ Hz)	114.2
3	6.40 (1H, d, $J = 9.8$ Hz)	114.2	4'	8.38 (1H, d, $J = 9.8$ Hz)	139.2
4	8.02 (1H, d, $J = 9.8$ Hz)	140.9	5'		146.4
5		127.5	6'		114.9
6		126.0	7'		152.5
7		147.2	8'		124.0
8		128.8	9'		141.8
9		144.2	10'		108.1
10		113.9	11'	7.30 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	145.3
11	7.50 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	146.9	12'	5.70 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	103.5
12	6.85 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)	106.0	13'		84.7
13	3.77 (2H, d, $J = 6.7$ Hz)	28.6	14'	6.29 (1H, dd, $J = 17.5, 10.8$ Hz)	142.7
14	5.15 (1H, m)	121.7	15'	5.15 (1H, brd, $J = 17.5$ Hz)	114.8
15		133.6		5.03 (1H, brd, $J = 10.8$ Hz)	
16	1.86 (3H, s)	25.7	16'	1.59 (3H, s)	26.7
17	1.73 (3H, s)	18.3	17'	1.59 (3H, s)	26.7
2'		160.3			

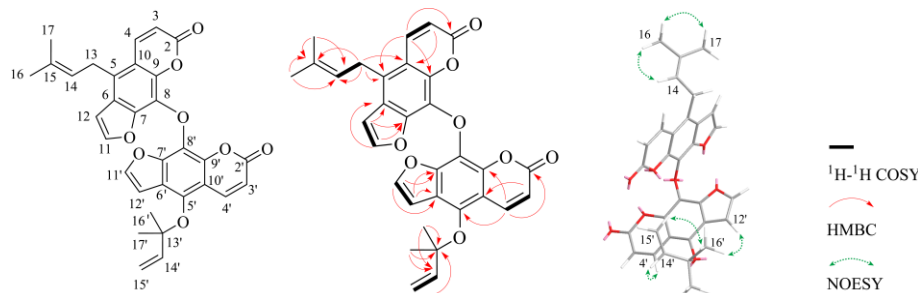


图 2 化合物 1 的结构式、主要 HMBC、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 和 NOESY 信号

Fig. 2 Structural formula of compound 1, major HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and NOESY signals

化合物**2**: 白色粉末, HR-ESI-MS  $m/z$  603  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{33}H_{30}O_{11}$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.10 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-4'), 8.05 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-4), 7.55 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-11'), 7.51 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-11), 7.09 (1H, s, H-8'), 6.98 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-12'), 6.96 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-12), 6.20 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-3), 6.14 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-3'), 5.17 (1H, brs, H-17'a), 5.01 (1H, brs, H-17'b), 4.63 (1H, dd,  $J=8.0, 3.0$  Hz, H-14'), 4.60 (1H, dd,  $J=10.0, 3.0$  Hz, H-13'a), 4.36 (1H, dd,  $J=10.0, 8.0$  Hz, H-13'b), 4.28 (1H, dd,  $J=10.0, 8.5$  Hz, H-13a), 4.22 (1H, dd,  $J=10.0, 3.5$  Hz, H-13b), 4.18 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 4.08 (1H, dd,  $J=8.5, 3.5$  Hz, H-14), 1.80 (3H, s, H-16'), 1.38 (3H, s, H-17), 1.32 (3H, s, H-16);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 160.1 (C-2), 112.6 (C-3), 139.5 (C-4), 144.6 (C-5), 114.0 (C-6), 150.2 (C-7), 127.1 (C-8), 143.9 (C-9), 107.2 (C-10), 145.0 (C-11), 105.3 (C-12), 75.7 (C-13), 76.1 (C-14), 78.2 (C-15), 21.9 (C-16), 24.0 (C-17), 60.6 (5-OCH<sub>3</sub>), 161.0 (C-2'), 112.7 (C-3'), 139.1 (C-4'), 148.5 (C-5'), 114.1 (C-6'), 158.0 (C-7'), 94.5 (C-8'), 152.5 (C-9'), 107.2 (C-10'), 145.0 (C-11'), 105.0 (C-12'), 75.6 (C-13'), 75.0 (C-14'), 144.4 (C-15'), 18.6 (C-16'), 114.2 (C-17')。该化合物的 NMR 数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 确定化合物**2**为 dahuribiethrin E。

化合物**3**: 白色粉末, HR-ESI-MS  $m/z$  603  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{33}H_{30}O_{11}$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.25 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-4'), 8.12 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-4), 7.53 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-11), 7.52 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-11'), 7.08 (1H, s, H-8'), 7.02 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-12'), 7.00 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-12), 6.27 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-3), 6.14 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-3'), 5.20 (1H, brs, H-17a), 4.99 (1H, brs, H-17b), 4.70 (1H, dd,  $J=9.0, 3.0$  Hz, H-14), 4.66 (1H, dd,  $J=10.0, 3.0$  Hz, H-13'b), 4.56 (1H, dd,  $J=10.0, 8.0$  Hz, H-13'a), 4.24 (1H, m, H-13a), 4.21(3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 4.18 (1H, dd,  $J=9.5, 3.0$  Hz, H-13b), 4.14 (1H, dd,  $J=8.0, 3.0$  Hz, H-14'), 1.81 (3H, s, H-16), 1.41 (3H, s, H-16'), 1.34 (3H, s, H-17');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 160.1 (C-2), 112.8 (C-3), 139.4 (C-4), 144.8 (C-5), 114.3 (C-6), 150.0 (C-7), 126.5 (C-8), 143.9 (C-9), 107.4 (C-10), 144.9 (C-11), 105.4 (C-12), 77.1 (C-13), 75.5 (C-14), 144.1 (C-15), 18.9 (C-16), 113.7 (C-17),

60.7 (5-OCH<sub>3</sub>), 161.3 (C-2'), 112.4 (C-3'), 139.8 (C-4'), 149.1 (C-5'), 114.2 (C-6'), 158.0 (C-7'), 94.2 (C-8'), 152.4 (C-9'), 107.5 (C-10'), 145.0 (C-11'), 105.0 (C-12'), 74.4 (C-13'), 75.6 (C-14'), 77.8 (C-15'), 22.0 (C-16'), 23.8 (C-17')。该化合物的 NMR 数据与文献报道基本一致<sup>[18]</sup>, 确定化合物**3**为 dahuribiethrin B。

### 3.3 AchE 抑制活性测定

对 3 个香豆素二聚体的 AchE 抑制活性进行测定, 结果显示化合物**2**表现出抗 AchE 活性,  $IC_{50}$  为  $(71.37 \pm 1.20) \mu\text{mol/L}$  [阳性对照石杉碱甲  $IC_{50}$  为  $(0.58 \pm 0.32) \mu\text{mol/L}$ ], 但化合物**1**和**3**在  $50 \mu\text{mol/L}$  浓度下均未表现出抑制活性。

## 4 讨论

杭白芷中含有结构新颖多样的香豆素二聚体类成分, 但这些成分含量极低, 导致其分离与结构鉴定难度较大。本研究采用 LC-MS 导向分离方法, 对杭白芷中的香豆素二聚体进行定向分离。在 LC-MS 分析过程中, 尽管发现相当数量的色谱峰均可能为香豆素二聚体, 但由于含量过低, 难以获得足量样品进行准确结构测定, 结果仅从  $50 \text{ kg}$  药材中成功分离鉴定了 3 个香豆素二聚体。目前, 从白芷中已报道的香豆素二聚体来看, 其形成途径主要有 2 种: 一种是 2 个异戊烯基侧链上的羟基通过分子间脱水形成二聚体; 二是通过异戊烯基取代基上的羟基对另一香豆素单元的内酯羰基进行亲核进攻, 从而形成含有原酸酯结构片段的香豆素二聚体。然而, 像化合物**1**这样直接通过 2 个酚羟基之间脱水连接而成的香豆素二聚体在以往研究中则鲜有报道。该发现进一步拓展了对杭白芷中香豆素类成分结构多样性的认识。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 109.
- [2] 薛艳萍, 秦旭华, 胡黄婉莹, 等. 白芷总香豆素和挥发油镇痛抗炎作用的比较研究 [J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(8): 20-22.
- [3] 杨诗雨, 高欣阳, 张庆芬, 等. 鲜白芷挥发油提取工艺优化及其成分与抗氧化活性研究 [J]. 中国调味品, 2026, 51(1): 234-243.
- [4] 王阳, 石璠钰, 卢姿含, 等. 白芷中非香豆素类成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(10): 1724-1731.
- [5] 康学军, 曲见松, 顾忠泽. 白芷多糖的分析 [J]. 分析化学, 2006, 34(4): 533-535.
- [6] Qi B W, Yang W Q, Ding N, *et al.* Pyrrole 2-carbaldehyde

- derived alkaloids from the roots of *Angelica dahurica* [J]. *J Nat Med*, 2019, 73(4): 769-776.
- [7] 袁英豪, 赖谦, 向卓亚, 等. 白芷研究现状及发展态势分析 [J]. 四川农业科技, 2025(9): 85-89.
- [8] Wu F Z, Liu J, Cao Z T, *et al.* Molecular mechanism of the *Saposhnikovia divaricata*-*Angelica dahurica* herb pair in migraine therapy based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2022, 2022(1): 1994575.
- [9] 雷雨恬, 黄婷, 陈文莉, 等. 不同等级川白芷有效成分含量及抗炎镇痛作用对比研究 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(1): 105-110.
- [10] Adakudugu E A, Obiri D D, Ameyaw E O, *et al.* Bergapten modulates ovalbumin-induced asthma [J]. *Sci Afr*, 2020, 8: e00457.
- [11] 苏琳, 邬宗周, 余茜, 等. 基于“肺主皮毛”理论在历代古方中挖掘最具美白祛斑潜力中药“二白一辛” [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(1): 35-45.
- [12] Lu X, Yuan Z Y, Yan X J, *et al.* Effects of *Angelica dahurica* on obesity and fatty liver in mice [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(9): 641-652.
- [13] Koziol E, Skalicka-Woźniak K. Imperatorin- pharmacological meaning and analytical clues: Profound investigation [J]. *Phytochem Rev*, 2016, 15(4): 627-649.
- [14] 蒋桂华, 张绿明, 马逾英, 等. 白芷综合开发利用研究进展及展望 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11): 2718-2720.
- [15] Wang Y, Shi F Y, Lu Z H, *et al.* Seven new 3,4-dihydrofuranocoumarin derivatives from *Angelica dahurica* [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(3): 457-462.
- [16] 温建牛, 石璠钰, 杨万青, 等. 白芷中香豆素类成分研究 [J]. 中草药, 2024, 55(19): 6465-6473.
- [17] Yang W Q, Zhu Z X, Song Y L, *et al.* Dimeric furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica* [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(8): 870-877.
- [18] Yang W Q, Song Y L, Zhu Z X, *et al.* Anti-inflammatory dimeric furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica* [J]. *Fitoterapia*, 2015, 105: 187-193.
- [19] Fan J P, *et al.* Characterization and synthesis of alkaloidal butenolides with seed germination stimulating properties from *Angelica dahurica* [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(13): 7822-7832.
- [20] 赵爱红, 杨秀伟, 杨鑫宝, 等. 祁白芷根中新的天然产物 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(16): 2400-2407.

[责任编辑 王文倩]

## 基于 OSMAC 策略与 GNPS 分子网络技术的缬草内生真菌 *Chaetomium elatum* FH-3 中抗真菌次生代谢产物研究

苏晶晶, 滕银涵, 尹柏雪, 王峰林, 李荣杰, 李玉泽, 王 薇, 宋小妹, 张东东, 樊 浩\*  
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 *Chaetomium elatum* FH-3 大米发酵产物中的抗真菌次生代谢产物。方法 采用一株多化合物(one strain many compounds, OSMAC)策略及全球天然产物社会分子网络(global natural product social molecular networking, GNPS)分子网络技术导向分离, 运用色谱学和波谱学方法鉴定结构。通过菌丝生长速率法测定化合物对木瓜炭疽杆菌的抑制活性。结果 从 *Chaetomium elatum* FH-3 的醋酸乙酯提取物中靶向分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为 4''-methoxy-asperianas A (1)、(3*S*,4*S*)-4-羟基-6-甲氧基蜂蜜曲菌素 (2a)、(3*R*,4*R*)-4-羟基-6-甲氧基蜂蜜曲菌素 (2b)、顺式-4,6-二羟基蜂蜜曲菌素 (3)、顺式-4-羟基蜂蜜曲菌素 (4)、6-甲氧基蜂蜜曲菌素 (5)、6,8-二羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素 (6)、3-甲基-6-羟基-8-甲氧基-3,4-二氢异香豆素 (7)、xenofuranone B (8)、黄嘌呤 B (9)、对羟基苯甲醛 (10) 和对羟基苯甲酸甲酯 (11)。抗菌实验表明, 化合物 1~4 对木瓜炭疽杆菌的抑制活性显著优于阳性药多菌灵, 其半数有效浓度 (half-maximal effective concentration, EC<sub>50</sub>) 分别为 15.02、25.31、37.89、47.86 μg/mL。结论 化合物 1 和 2a 为新的丁烯内酯类和二氢异香豆素类化合物, 分别命名为曲霉丁烯内酯 A (butenolide A) 和缬草二氢异香豆素 C (dihydroisocoumarin C); 化合物 8~9 首次从该菌株中分离得到。化合物 1~9 对木瓜炭疽杆菌有抑制作用。

**关键词:** 缬草; *Chaetomium elatum* FH-3; OSMAC 策略; GNPS 分子网络; 结构鉴定; 抗真菌

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)12-4528-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.12.003

## Antifungal secondary metabolites from *Chaetomium elatum* FH-3 of *Valeriana officinalis* endophytic fungus based on OSMAC strategy and GNPS molecular networking

SU Jingjing, TENG Yinhan, YIN Baixue, WANG Fenglin, LI Rongjie, LI Yuze, WANG Wei, SONG Xiaomei, ZHANG Dongdong, FAN Hao

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

**Abstract: Objective** To investigate the antifungal secondary metabolites from the rice fermentation products of the *Valeriana officinalis* endophytic fungus *Chaetomium elatum* FH-3. **Methods** The one strain many compounds OSMAC (OSMAC) strategy and global natural products social molecular networking (GNPS) molecular networking technology were employed for targeted separation. Chromatographic and spectroscopic methods were used for structural identification. The antifungal activity of the compounds against *Colletotrichum gloeosporioides* was evaluated using the mycelial growth rate method. **Results** A total of 12 compounds were targeted and isolated from the ethyl acetate extract of *Chaetomium elatum* FH-3. These compounds were identified as 4''-methoxy-asperianas A (1), (3*S*,4*S*)-4-hydroxy-6-methoxymellein (2a), (3*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-methoxymellein (2b), *cis*-4,6-dihydroxymellein (3), *cis*-4-hydroxymellein (4), 6-methoxymellein (5), 6,8-dihydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarin (6), 3-methyl-6-hydroxy-8-methoxy-3,4-dihydroisocoumarin (7), xenofuranone B (8), flavipessin B (9), *p*-hydroxybenzaldehyde (10), and *p*-hydroxybenzoic acid methyl ester

收稿日期: 2026-03-16

基金项目: 陕西省教育厅科学研究项目 (25JK0430); 陕西省“三秦英才”引进计划; 国家中医药管理局重点学科项目 (zyyzdxk-2023202); 太白七药功效物质发现与应用创新团队; 大学生创新训练计划项目 (S202610716001)

作者简介: 苏晶晶, 硕士研究生, 主要研究方向为中草药药效物质基础研究。E-mail: 18009182510@163.com

\*通信作者: 樊 浩, 博士, 实验师, 主要从事中草药药效物质基础研究。E-mail: fanhao@sntcm.edu.cn

(11). Antifungal testing showed that compounds 1—4 exhibited significantly stronger inhibitory activity against *C. gloeosporioides* than the positive control carbendazim, with half-maximal effective concentration (EC<sub>50</sub>) values of 15.02, 25.31, 37.89, and 47.86 μg/mL, respectively. **Conclusion** Compounds 1 and 2a are new butenolide and dihydroisocoumarin derivatives, named butenolide A and dihydroisocoumarin C respectively, and compounds 8 and 9 are reported for the first time from this strain. Compounds 1—9 demonstrate significant inhibitory activity against *C. gloeosporioides*.

**Key words:** *Valeriana officinalis* L.; *Chaetomium elatum* FH-3; OSMAC strategy; GNPS molecular networking; structural identification; antifungal

植物病原真菌引发的病害严重威胁农作物产量, 成为农业生产中的一大隐患。尽管现有的化学杀菌剂在防治病害中起到了关键作用, 但长期使用已导致病原菌抗药性增强, 并带来生态环境污染和农产品安全隐患等问题<sup>[1-4]</sup>。因此, 开发新型、结构独特且具有多重作用机制的天然抗真菌活性物质成为当今农药研究的一个重要方向。植物内生真菌作为长期与宿主植物共生的特殊微生物类群, 其代谢产物种类丰富且具有显著的生物活性, 已成为发现新型抗真菌化合物的潜在资源<sup>[5-10]</sup>。尤其是药用植物相关的内生真菌, 其代谢物质具有独特的活性和结构, 值得深入挖掘。

缬草 *Valeriana officinalis* L. 作为传统药用植物, 具有广泛的药理活性, 其内生真菌的次生代谢产物研究仍相对较少, 尤其是在抗植物病原真菌的活性物质方面。本研究采用 OSMAC (one strain many compounds) 策略, 通过调节培养基组成来诱导缬草内生真菌 *Chaetomium elatum* FH-3 产生不同的代谢谱, 并结合全球天然产物社会分子网络 (global natural product social molecular networking, GNPS) 技术对其发酵提取物进行分析和靶向分离。通过这一方法从醋酸乙酯提取物中分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为 4''-methoxy-asperianas A (1)、

(3*S*,4*S*)-4-羟基-6-甲氧基蜂蜜曲菌素 [(3*S*,4*S*)-4-hydroxy-6-methoxymellein, 2a]、(3*R*,4*R*)-4-羟基-6-甲氧基蜂蜜曲菌素 ((3*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-methoxymellein, 2b)、顺式-4,6-二羟基蜂蜜曲菌素 (*cis*-4,6-dihydroxymellein, 3)、顺式-4-羟基蜂蜜曲菌素 (*cis*-4-hydroxymellein, 4)、6-甲氧基蜂蜜曲菌素 (6-methoxymellein, 5)、6,8-二羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素 (6,8-dihydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarin, 6)、3-甲基-6-羟基-8-甲氧基-3,4-二氢异香豆素 (3-methyl-6-hydroxy-8-methoxy-3,4-dihydroisocoumarin, 7)、xenofuranone B (8)、黄嘌呤 B (flavipessin B, 9)、对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde, 10) 和对羟基苯甲酸甲酯 (*p*-hydroxybenzoic acid methyl ester, 11), 结构如图 1 所示。其中化合物 1 和 2a 为新化合物, 命名为曲霉丁烯内酯 A (butenolide A) 和缬草二氢异香豆素 C (dihydroisocoumarin C); 化合物 8~9 首次从该菌株中分离得到。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

LC-6AD 半制备液相色谱 (日本岛津公司, SPD-20A 检测器); AVANCE NMR 波谱仪 (德国 Bruker 公司); Triple TOF™ 5600+ 质谱仪 (AB SCIEX);

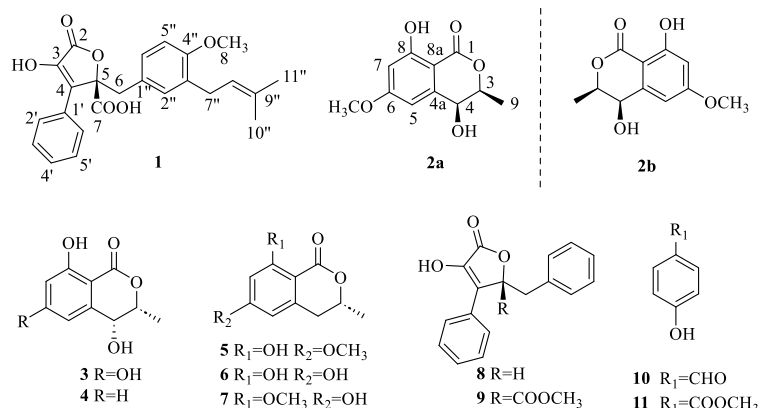


图 1 化合物 1~11 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—11

圆二色谱仪 (Applied PhotoPhysics); Welch Ultimate XB-C<sub>18</sub>柱 (250 mm×10 mm, 5 μm); RV10 旋蒸仪 (德国 IKA 公司)。柱色谱硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工厂)。色谱甲醇 (天津市科密欧化学试剂有限公司), 分析级试剂 (天津市天力化学试剂有限公司)。木瓜炭疽杆菌 (广东省农业科学院果树研究所)。多菌灵 (陕西宝来生生物科技有限公司, 批号 S202510202)。大米、土豆等购于市场。

## 1.2 药材与菌株来源

菌株 FH-3 分离自陕西秦岭太白山缬草 *V. officinalis* L. 新鲜根茎, 经陕西中医药大学王薇教授鉴定为败酱科缬草属植物缬草 (标本号 SZY-XC20250610)。ITS 序列 (GenBank 号 OK093306.1) 比对鉴定为 *Chaetomium elatum*。菌种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 方法

### 2.1 OSMAC 策略及优势培养基筛选

大米培养基 (1 号培养基): 大米 100 g/瓶、水 115 mL/瓶、盐度 6.5%。

麦麸培养基 (2 号培养基): 麦麸 100 g/瓶、水 115 mL/瓶、盐度 6.5%。

黄豆培养基 (3 号培养基): 黄豆 100 g/瓶、水 115 mL/瓶、盐度 6.5%。

真 1 培养基 (4 号培养基): 4% 麦芽糖、5% 山梨醇、1.3% 酵母膏、1.0% 味精、0.05% 色氨酸、0.03% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、盐度 6.5% (pH 6.5~7.0)。

E 培养基 (5 号培养基): 4% 葡萄糖、土豆水 400 g/L、盐度 15% (自然 pH)。

PDB 培养基 (6 号培养基): 2% 葡萄糖、土豆水 200 g/L、盐度 6.5% (自然 pH)。

为充分挖掘 *Chaetomium elatum* FH-3 菌株的代谢潜能, 在 6 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<sup>[9]</sup>。发酵产物经 LC-MS 分析, UPLC 条件为 0~2.5 min, 10%~30% 乙腈, 2.5~15 min, 30%~90% 乙腈, 体积流量 0.7 mL/min。

### 2.2 发酵、提取与靶向分离

取种子液 10 mL 接种至含 100 g 大米培养基的 1 L 培养瓶中, 共发酵 100 L (25 °C、30 d)。发酵物以醋酸乙酯浸泡提取, 减压浓缩得浸膏 65 g。浸膏经硅胶柱 (二氯甲烷-甲醇 80:1→1:1) 梯度洗脱, 得 6 个流分 (F. 1~F. 6)。F. 3 (14.5 g) 经 ODS

柱 (甲醇-水 20:80→100:0) 分离得 F. 3-1~F. 3-5。结合 GNPS 分子网络靶向追踪, 对各亚流分进行半制备 HPLC 分离: F. 3-1 (1.2 g) 经半制备 (甲醇-水 35:65) 得化合物 11 ( $t_R=17.0$  min, 11.0 mg)、10 ( $t_R=23.5$  min, 8.5 mg)。F. 3-2 (2.8 g) 经半制备 (甲醇-水 40:60) 得化合物 2 ( $t_R=25.0$  min, 4.0 mg)、3 ( $t_R=32.0$  min, 9.0 mg)、4 ( $t_R=38.2$  min, 12.0 mg)、7 ( $t_R=39.2$  min, 6.0 mg)。F. 3-3 (1.5 g) 经半制备 (甲醇-水 45:55) 得化合物 5 ( $t_R=15.5$  min, 6.0 mg)、6 ( $t_R=21.0$  min, 12.0 mg)。F. 3-4 (2.5 g) 经半制备 (甲醇-水 65:35) 得化合物 1 ( $t_R=10.0$  min, 6.0 mg)、8 ( $t_R=19.0$  min, 13.5 mg)、9 ( $t_R=31.5$  min, 5.0 mg)。

### 2.3 GNPS 分子网络分析

将二级流分的 LC-MS/MS 数据上传至 GNPS 平台 (<http://gnps.ucsd.edu>) 构建分子网络。参数设置: 母离子质量容差 0.02, 碎片离子容差 0.02, 余弦阈值 >0.7, 最少匹配峰数 >6。网络图在 Cytoscape 3.7.2 中可视化<sup>[11]</sup>。

### 2.4 抗真菌活性测定

采用菌丝生长速率法<sup>[11]</sup>。将化合物与 PDA 培养基混合, 配制成终质量浓度为 100、50、25、12.5、6.25 μg/mL 的含药平板。接种直径为 5 mm 的菌饼, 28 °C 培养 3 d, 十字交叉法测量菌落直径, 计算抑制率及半数有效浓度 (half-maximal effective concentration, EC<sub>50</sub>) 值。以无菌水为空白对照, 多菌灵为阳性对照, 每浓度设 3 组平行。

## 3 结果

### 3.1 OSMAC 策略下优势培养基考察

基于 OSMAC 策略在 6 种培养基中对 *Chaetomium elatum* FH-3 菌株的次生代谢产物进行调控, 筛选优势培养基。结果显示, 不同培养基显著影响该菌株次级代谢产物的组成 (图 2)。实验表明, *Chaetomium elatum* FH-3 菌株在 1 号培养基中的次级代谢产物经 LC-MS 分析表现出多样化的保留时间和丰富的色谱峰, 因此选定其为该菌株的优势培养基。

### 3.2 GNPS 靶向分离

为靶向识别二氢异香豆素富集部位, 以已知化合物 4-hydroxykigelin 为探针与 *Chaetomium elatum* FH-3 大米培养基醋酸乙酯提取物部位的二级流分 F. 3-1~F. 3-5 共建 GNPS 分子网络 (图 3)。结果表明, 在 Cluster-3 簇 F. 3-1~F. 3-4 流分中提示存在大

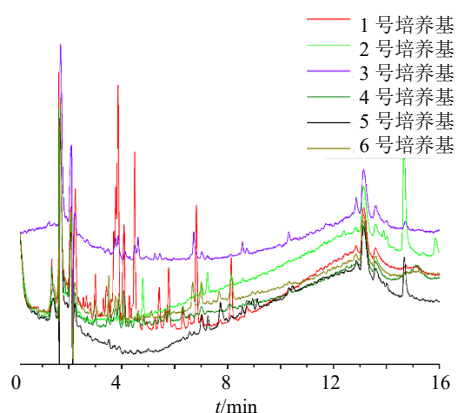


图2 *Chaetomium elatum* FH-3 菌株在6种培养基中代谢产物的LC-MS对比图

Fig. 2 Comparison chart of LC-MS of *Chaetomium elatum* FH-3 cultured in six different media

量二氢异香豆素类化合物。

### 3.3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色油状物, HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰  $m/z$ : 407.149 9  $[M-H]^-$  (计算值 407.149 5), 结合 1D NMR 确定其分子式为  $C_{24}H_{24}O_6$ , 不饱和度为 13。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ ) 谱图显示, 单取代苯环信号位于  $\delta_H$  7.70 (2H, m, H-2', 6'), 7.43 (2H, m, H-3', 5'), 7.35 (1H, m, H-4'); 另有 1 个 1,3,4-三取代苯环信号  $\delta_H$  6.42 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2''), 6.52 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5''), 6.52 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-6''); 以及 1 个烯烃质子信号  $\delta_H$  5.07 (1H, s, H-8'')。  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ ) 谱图显示 24 个碳信号, 归类为 3 个甲基信号、2 个亚甲基信号、9 个亚甲基信号和 10 个非质子化碳原子信号。HSQC 给出化合物 1 的碳氢归

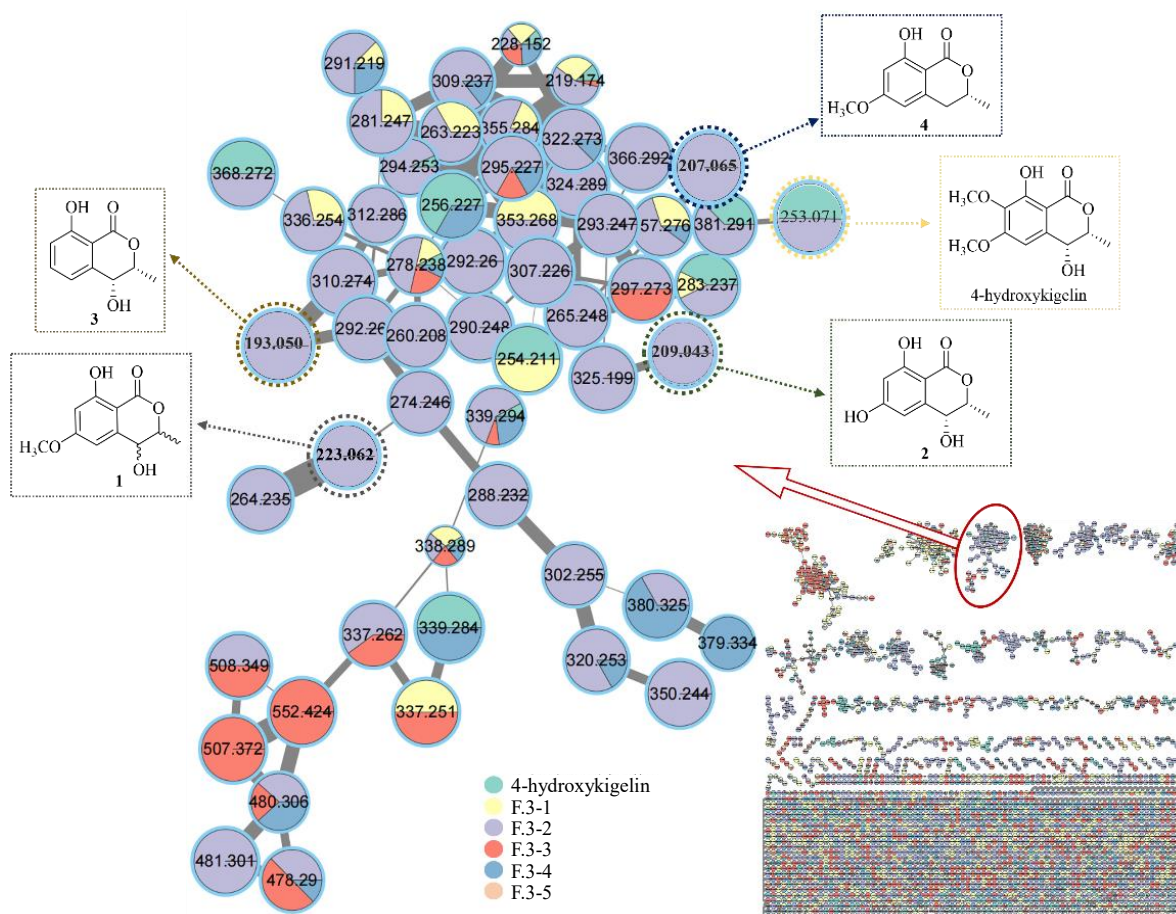


图3 GNPS 分子网络靶向分离图

Fig. 3 GNPS molecular network targeted isolation map

属 (表 1)。 $^1H$ - $^1H$ COSY 谱图 (图 4) 提示: H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/H-6'/H-7'/H-8''。

HMBC 谱图 (图 4) 中 H-6 与 C-5、C-7、C-1''、C-2''和 C-6'' 相关; H-8 与 C-4''相关; H-5''与 C-1''及 C-3''相关;

表 1 化合物 1 的  $^1\text{H}$ -和  $^{13}\text{C}$ -NMR 数据 (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  
Table 1  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR data for compound 1 (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$ , type	碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$ , type
2		169.4, C	1''		131.2, C
3		141.2, C	2''	6.42 (d, $J = 1.6$ Hz)	132.4, CH
4		128.0, C	3''		124.4, C
5		86.4, C	4''		154.5, C
6	3.45 (s)	39.0, $\text{CH}_2$	5''	6.52 (d, $J = 8.2$ Hz)	114.6, CH
7		170.9, C	6''	6.52 (d, $J = 8.2$ Hz)	129.3, CH
8	3.74 (s)	53.5, $\text{CH}_3$	7''	3.08 (dd, $J = 7.8, 3.9$ Hz)	28.3, $\text{CH}_2$
1'		127.6, C	8''	5.07 (s)	123.1, CH
2', 6'	7.70 (m)	128.1, CH	9''		131.9, C
3', 5'	7.43 (m)	129.3, CH	10''	1.64 (s)	25.5, $\text{CH}_3$
4'	7.35 (m)	129.3, CH	11''	1.55 (d, $J = 1.4$ Hz)	17.4, $\text{CH}_3$

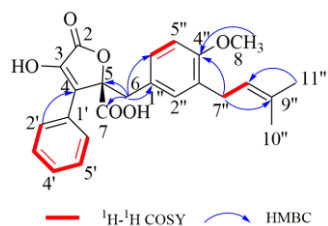


图 4 化合物 1 的结构及主要的  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 和 HMBC 相关信号

Fig. 4 Chemical structures and key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY and HMBC correlations of compound 1

H-2''与C-4''及C-6''相关; H-7''与C-2''及C-4''相关; H-8''与C-10''及C-11''相关; H-11''与C-10''相关; H-10''与C-8''及C-9''相关。与文献报道<sup>[12]</sup>对比, 化合物 1 与已知化合物 butyrolactones I 结构类似, 分析两者的核磁共振数据, 发现化合物 1 的氢谱中于  $\delta_{\text{H}}$  7.35 (1H, m) 处出现 1 个额外的芳环质子信号, 归属为 H-4', 同时碳谱中 C-4' 化学位移 ( $\delta_{\text{C}}$  129.3) 较 butyrolactones I 中对应酚羟基取代的 C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  158.8) 明显向高场位移, 表明化合物 1 的 4' 位为芳氢而非酚羟基。此外, 化合物 1 的 C-5 位呈羧基特征, 而非 butyrolactones I 中的甲酯基; C-4'' 位为甲氧基取代, 由 HMBC 谱中 H-8 与 C-4'' 的相关信号证实。因此, 化合物 1 的平面结构确定。根据其生物合成来源<sup>[9]</sup>, 将化合物 1 的绝对构型确定为 5*R*, 并通过 ECD 计算得到验证 (图 5)。经 Scifinder 检索, 1 为未见文献报道的新化合物, 命名为曲霉丁烯内酯 A。

化合物 2: 淡黄色油状胶体, HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰  $m/z$ : 223.061 1 [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$  (计算值

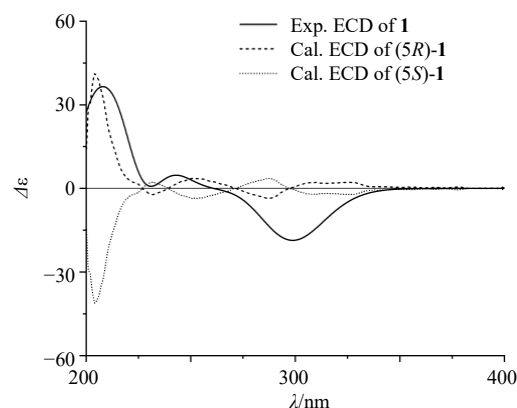


图 5 化合物 1 的实验和计算 ECD 谱图

Fig. 5 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

223.060 6), 结合 1D NMR 确定其分子式为  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$ , 不饱和度为 6。  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 谱提示存在 2 个苯环氢信号  $\delta_{\text{H}}$  6.55 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 6.48 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz)。  $\delta_{\text{H}}$  4.65 (1H, dd,  $J = 6.6, 2.0$  Hz), 4.51 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz) 为 2 个连氧次甲基质子信号,  $\delta_{\text{H}}$  3.86 (3H, s) 为 1 组甲氧基质子信号,  $\delta_{\text{H}}$  1.48 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz) 为 1 组甲基质子信号。  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 谱显示存在 11 个碳信号, 包括 1 个酯基碳信号、6 个芳香碳信号、2 个连氧次甲基碳信号、1 个甲氧基碳信号和 1 个甲基碳信号。 HSQC 给出化合物 2 的碳氢归属 (表 2)。  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱图 (图 6) 显示存在 1 组自旋偶合系统: H<sub>3</sub>-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1.48, d,  $J = 6.6$  Hz)/H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4.65, dd,  $J = 6.6, 2.0$  Hz)/H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4.51, d,  $J = 2.0$  Hz)。 HMBC 谱图 (图 6) 中 6-OMe ( $\delta_{\text{H}}$  3.86, s) 与 C-6 ( $\delta_{\text{C}}$

表2 化合物2的<sup>1</sup>H-和<sup>13</sup>C-NMR数据(400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Table 2 <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data for compound 2 (400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

碳位	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub> , type
1		171.0, C
3	4.65 (dd, <i>J</i> = 6.6, 2.0 Hz)	79.5, CH
4	4.51 (d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	67.8, CH
4a		144.8, C
5	6.55 (d, <i>J</i> = 2.5 Hz)	107.5, CH
6		167.7, C
7	6.48 (d, <i>J</i> = 2.5 Hz)	101.8, CH
8		165.3, C
8a		101.4, C
9	1.48 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz)	16.2, CH <sub>3</sub>
6-OMe	3.86 (s)	56.3, -OCH <sub>3</sub>

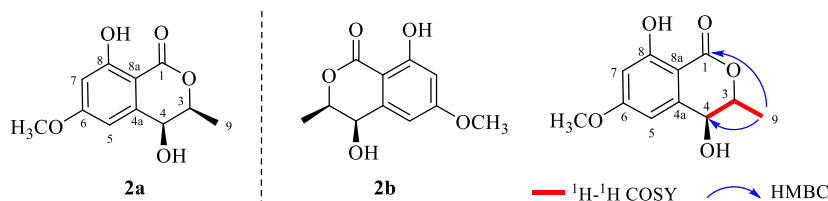


图6 化合物2a和2b的结构及主要的<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY和HMBC相关信号

Fig. 6 Chemical structures and key <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and HMBC correlations of compounds 2a and 2b

消旋混合物。通过手性柱在制备液相上分析, 发现有2个峰面积约为1:1的峰, 进一步证实了该化合物为外消旋体。通过半制备手性柱分离得到2个光学纯化合物2a和2b, 测得其比旋光度为 $[\alpha]_D^{25} +39.1$  (*c* 0.10, MeOH)、 $[\alpha]_D^{25} -35.9$  (*c* 0.10, MeOH)。再测定出2个光学纯化合物2a和2b的CD图谱(图7), 它们的Cotton效应曲线正好呈现镜像关系。进一步采用ECD计算确定2a和2b的绝对构型分别为3*S*,4*S*和3*R*,4*R*。经Scifinder检索, 2a为未见文献报道的新化合物, 命名为缬草二氢异香豆素C。

化合物3: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25} -26.1$  (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS给出的准分子离子峰 *m/z*: 209.043 9  $[M-H]^-$  (计算值 209.045 0), 结合1D NMR确定其分子式为C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 6.46 (1H, s, H-5), 6.36 (1H, s, H-7), 4.66 (1H, dd, *J* = 6.6, 1.9 Hz, H-3), 4.28 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-4), 1.44 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, 3-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 170.9 (C-1), 167.1 (C-6), 166.9 (C-8), 145.0 (C-4a), 109.8 (C-5), 103.9 (C-7), 99.9 (C-8a), 79.2 (C-3), 68.4 (C-4), 15.9 (3-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物3为顺式-4,6-二羟基蜂蜜曲菌素。

167.7, C) 相关确定甲氧基连接在C-6上; H-4 (δ<sub>H</sub> 4.51, d, *J* = 2.0 Hz) 与C-5 (δ<sub>C</sub> 107.5, CH) 相关, 提示羟基连接在C-5上。结合H<sub>3</sub>-9与C-1 (δ<sub>C</sub> 171.0, C)/C-3 (δ<sub>C</sub> 79.5, CH)/C-4 (δ<sub>C</sub> 67.8, CH) 相关, H-3 (δ<sub>H</sub> 4.65, dd) 与C-1/C-4a (δ<sub>C</sub> 144.8, C) 相关, 确定C-3位置有甲基取代, 且A环通过C-4a-C-8a与B环骈并。因此, 化合物2的平面结构确定<sup>[13]</sup>。

通过比较化合物2的*J*<sub>3,4</sub> = 2.0 Hz与顺式-4,6-二羟基蜂蜜曲菌素(3) (*J*<sub>3,4</sub> = 1.9 Hz)<sup>[13]</sup>和顺式-4-羟基蜂蜜曲菌素(4) (*J*<sub>3,4</sub> = 1.8 Hz)<sup>[14]</sup>的*J*<sub>3,4</sub>值进行对比, 确定C-3和C-4的相对构型为顺式。由于化合物2比旋光度为 $[\alpha]_D^{25} +0.10$  (*c* 0.10, MeOH)接近于0且ECD上无明显Cotton效应, 推测其为外

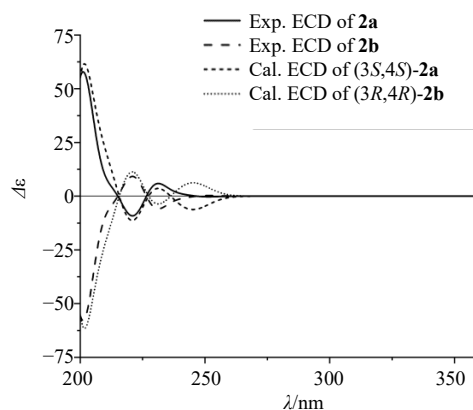


图7 化合物2a和2b的实验和计算ECD谱图

Fig. 7 Experimental and calculated ECD spectra of compounds 2a and 2b

化合物4: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25} -43.1$  (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS给出的准分子离子峰 *m/z*: 193.050 9  $[M-H]^-$  (计算值 193.050 1), 结合1D NMR确定其分子式为C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.45 (1H, m, H-6), 6.96 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-7), 6.93 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 4.69 (1H, dd, *J* = 6.5, 1.8 Hz, H-3), 4.45 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4), 1.49 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, 3-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,

CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.3 (C-1), 170.3 (C-8), 142.8 (C-10), 142.0 (C-5), 137.9 (C-6), 119.9 (C-7), 108.4 (C-9), 79.9 (C-3), 68.1 (C-4), 16.4 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为顺式-4-羟基蜂蜜曲菌素。

化合物 **5**: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25}$ -35.6 (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 *m/z*: 207.065 0 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 207.065 7), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.37 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 6.22 (1H, dd, *J* = 2.0, 1.0 Hz, H-7), 3.86 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.36 (1H, m, H-3), 1.89 (1H, m, H-4), 1.42 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, 3-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 169.2 (C-1), 167.6 (C-8), 166.7 (C-6), 145.2 (C-4a), 107.9 (C-5), 103.6 (C-8a), 100.1 (C-7), 75.6 (C-3), 57.8 (C-4), 37.8 (C-10), 21.0 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为 6-甲氧基蜂蜜曲菌素。

化合物 **6**: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25}$ -29.9 (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 *m/z*: 193.050 3 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 193.050 1), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.38 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 6.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7), 4.66 (1H, m, H-3), 2.82 (1H, dd, *J* = 16.0, 4.5 Hz, H-4b), 2.77 (1H, dd, *J* = 16.0, 11.2 Hz, H-4a), 1.42 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, 3-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.1 (C-1), 165.9 (C-8), 145.5 (C-4a), 108.9 (C-5), 101.2 (C-7), 100.8 (C-8a), 78.2 (C-3), 67.1 (C-6), 35.4 (C-4), 19.9 (3-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为 6,8-二羟基-3-甲基-3,4-二氢异香豆素。

化合物 **7**: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25}$ -32.2 (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 *m/z*: 207.066 0 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 207.065 7), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.67 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7), 6.38 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 4.67 (1H, m, H-3), 3.86 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 2.88 (1H, dd, *J* = 16.0, 3.5 Hz, H-4b), 2.79 (1H, dd, *J* = 16.0, 11.2 Hz, H-4a), 1.43 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, 3-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.0 (C-1), 165.9 (C-8), 163.5 (C-6), 145.6 (C-4a), 108.8 (C-5), 106.8 (C-8a), 101.2 (C-7), 78.2 (C-3), 37.9 (C-10), 35.5 (C-4), 20.0 (3-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为 3-甲基-6-羟基-

8-甲氧基-3,4-二氢异香豆素。

化合物 **8**: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25}$ +145.6 (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 *m/z*: 265.085 5 [M-H]<sup>-</sup> (计算值: 265.086 5), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.66 (2H, m, H-2', 6'), 7.56 (2H, m, H-3', 5'), 7.44 (1H, m, H-4'), 7.26 (2H, m, H-4'', 6''), 7.24 (1H, m, H-5''), 7.06 (2H, m, H-3'', 7''), 5.58 (1H, dd, *J* = 6.0, 3.0 Hz, H-4), 3.44 (1H, dd, *J* = 14.0, 3.0 Hz, H-1a''), 2.99 (1H, dd, *J* = 14.0, 6.0 Hz, H-1b''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.1 (C-1), 140.2 (C-2), 135.7 (C-2''), 130.5 (C-3', 5'), 130.5 (C-4'), 129.8 (C-1'), 129.6 (C-2', 6'), 129.6 (C-3), 129.3 (C-3'', 7''), 129.2 (C-5''), 128.5 (C-4'', 6''), 80.7 (C-4), 40.2 (C-1'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为 xenofuranone B。

化合物 **9**: 淡黄色油状胶体,  $[\alpha]_D^{25}$ +86.9 (*c* 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 *m/z*: 323.092 5 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 323.091 9), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.76 (2H, m, H-2', 6'), 7.57 (2H, m, H-3', 5'), 7.44 (1H, m, H-4'), 7.24 (2H, m, H-4'', 6''), 7.23 (1H, m, H-5''), 6.89 (2H, m, H-3'', 7''), 3.99 (1H, d, *J* = 14.5, Hz, H-1b''), 3.64 (1H, d, *J* = 14.5, Hz, H-1a''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.5 (C-1), 170.1 (C-8''), 140.3 (C-2), 133.7 (C-2''), 130.6 (C-3', 5'), 130.6 (C-4'), 130.3 (C-3'', 7''), 129.7 (C-1'), 129.7 (C-2', 6'), 129.5 (C-5''), 128.6 (C-3), 128.6 (C-4'', 6''), 81.0 (C-4), 56.5 (C-9''), 40.3 (C-1'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为黄嘌呤 B。

化合物 **10**: 白色粉末, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 *m/z*: 121.028 7 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 121.029 0), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 9.97 (1H, s, H-7), 7.69 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2, 6), 6.87 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3, 5); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 190.9 (C-7), 164.4 (C-4), 132.3 (C-2, 6), 127.8 (C-1), 115.9 (C-3, 5)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **11**: 白色粉末, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 *m/z*: 151.048 0 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 151.047 3), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.59 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2, 6),

6.67 (2H, d,  $J=8.2$  Hz, H-3, 5), 3.80 (1H, s, H-7);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 162.8 (C-4), 131.3 (C-2, 6), 123.8 (C-1), 115.9 (C-3, 5), 53.7 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为对羟基苯甲酸甲酯。

### 3.4 抗真菌活性

采用菌丝生长速率法测定了化合物 **1~11** 对木瓜炭疽杆菌的抑制活性,  $\text{EC}_{50}$  值见表 3。结果显示, 二氢异香豆素类化合物 (**2~7**) 对该病原菌表现出不同程度的抑制活性,  $\text{EC}_{50}$  值在 25.31~89.86  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其中, 化合物 **1** ( $\text{EC}_{50}=15.02$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、**2** ( $\text{EC}_{50}=25.31$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、**3** ( $\text{EC}_{50}=37.89$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和 **4** ( $\text{EC}_{50}=47.86$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的  $\text{EC}_{50}$  值低于阳性药多菌灵 ( $\text{EC}_{50}=49.58$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 表明在本实验条件下, 这 3 个化合物的抑制活性优于多菌灵。化合物 **5~7** 的  $\text{EC}_{50}$  值分别为 79.69、89.86、69.98  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 活性弱于多菌灵。丁烯内酯类化合物 **8** 和 **9** 对木瓜炭疽杆菌也表现出一定的抑制活性,  $\text{EC}_{50}$  值分别为 80.54、76.68  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。酚酸类化合物 **10** 和 **11** 在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度下未表现出明显抑制作用 ( $\text{EC}_{50}>100$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。

表 3 化合物 **1~11** 对木瓜炭疽杆菌菌丝生长  $\text{EC}_{50}$  值 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3  $\text{EC}_{50}$  values of compounds **1—11** against mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides* ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

化合物	$\text{EC}_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	化合物	$\text{EC}_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
<b>1</b>	15.02±0.15	<b>7</b>	69.98±0.20
<b>2</b>	25.31±0.24	<b>8</b>	80.54±0.11
<b>3</b>	37.89±0.21	<b>9</b>	76.68±0.17
<b>4</b>	47.86±0.22	<b>10</b>	>100
<b>5</b>	79.69±0.14	<b>11</b>	>100
<b>6</b>	89.86±0.13	多菌灵	49.58±0.10

## 4 讨论

本研究采用 OSMAC 策略和 GNPS 分子网络技术, 成功实现了对缙草内生真菌 *Chaetomium elatum* FH-3 中抗真菌活性成分的高效靶向分离。通过这一方法, 共分离得到 12 个化合物, 其中包括两个新化合物 (化合物 **1**、**2a**)。所分离得到的化合物主要包括二氢异香豆素、丁烯内酯、酚酸等不同类型的次生代谢产物。通过改变培养基组成、调节培养条件, 能够有效影响菌株的代谢途径, 进而获得不同的代谢产物谱。GNPS 分子网络技术的应用对二氢异香豆素类化合物的识别提供了重要参考, 利用 LC-MS/MS 数据的聚类分析, 能够有效减少分离过程中

的盲目性, 为后续化合物的分离提供了明确方向。

抗真菌活性实验表明, 化合物 **1~4** 表现出较强的抗木瓜炭疽杆菌活性, 且活性优于阳性对照药物多菌灵。从结构上分析, 化合物 **2~4** 均含有 C-4 位的羟基, 而 C-4 位未被羟基取代的化合物 **5~7** 表现出较弱的抗真菌活性, 表明 C-4 位羟基是这些化合物抗真菌活性的关键功能基团。本研究为缙草内生真菌次生代谢产物的多样性提供了新的视角, 也为采用 OSMAC 策略挖掘新型抗真菌化合物提供了有力的实验依据, 具有较高的学术价值和应用前景。

志谢: 广州中医药大学张翠仙教授课题组在菌株培养条件和 GNPS 分子网络技术上给予大力支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] de Oliveira Filho J G, da Cruz Silva G, 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] Jian J Y, Fan Y M, Jin J, et al. Isolating antipathogenic fungal coumarins from *Coriaria nepalensis* and determining their primary mechanism *in vitro* [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(12): 6711-6722.
- [3] Zhang J, Yan L T, Yuan E L, et al. Antifungal activity of compounds extracted from cortex pseudolaricis against *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(21): 4905-4910.
- [4] Van Nguyen M, Han J W, LeDang Q A, et al. Clerodane diterpenoids identified from *Polyalthia longifolia* showing antifungal activity against plant pathogens [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(36): 10527-10535.
- [5] 程龙媛, 张国卉, 孙燕, 等. 药用植物-内生菌-根际微生物互作研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(15): 5264-5273.
- [6] 谷荆洲, 任文静, 鲍梦雨, 等. 黄芦木内生真菌 *Talaromyces tiftonensis* SN34 的次生代谢产物研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(21): 6946-6952.
- [7] Iantas J, Savi D C, Ponomareva L V, et al. Paecilins Q and R: Antifungal chromanones produced by the endophytic fungus *Pseudofusicoccum stromaticum* CMRP4328 [J]. *Planta Med*, 2023, 89(12): 1178-1189.
- [8] Fan Y Z, Tian C, Tong S Y, et al. The antifungal properties of terpenoids from the endophytic fungus *Bipolaris eleusines* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2023, 13(1): 43.
- [9] Fan H, Shao X H, Wu P P, et al. Exploring brominated aromatic butenolides from *Aspergillus terreus* EGF7-0-1 with their antifungal activities [J]. *J Agric Food Chem*,

- 2024, 72(36): 19869-19882.
- [10] Fan H, Shao X H, Zhang Z K, *et al.* Penicilloneines a and B, quinolone-citrinin hybrids from a starfish-derived *Penicillium* sp [J]. *J Nat Prod*, 2024, 87(4): 705-712.
- [11] Fan H, Wu P P, Wang X, *et al.* OSMAC-activated and GNPS-guided investigation of alkaloids from an endophytic fungus *Aspergillus* sp. FH-1 of *Valeriana officinalis* L. [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2026, 124: 105151.
- [12] 何悦铭, 赵立凝, 陈欣琪, 等. 海洋本草软珊瑚共附生真菌 *Aspergillus terreus* EGF7-0-1 中  $\gamma$ -芳环丁烯内酯类化合物研究 (I) [J]. *热带海洋学报*, 2025, 44(1): 146-153.
- [13] Tanahashi T, Takenaka Y, Hamada N. Aromatic compounds from cultured lichen mycobionts of three *Graphis* species [J]. *Heterocycles*, 2011, 83(9): 2157.
- [14] 陈勇旭, 刘璇, 赵迪, 等. 真菌土曲霉化学成分的分  
离与鉴定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2022, 39(10): 1189-  
1196.
- [15] 项峥, 阎新佳, 温静, 等. 白花败酱草的化学成分研究  
[J]. *中国药学杂志*, 2017, 52(3): 185-187.
- [16] 李思怡, 申淑梅, 王远强, 等. 海洋真菌 *Talaromyces*  
sp. 1116 的次生代谢产物研究 [J]. *工业微生物*, 2024,  
54(3): 35-38.
- [17] Yang H G, Li J J, Chen S M, *et al.* Phenylisotertronic acids  
from the TCM endophytic fungus *Phyllosticta* sp [J].  
*Fitoterapia*, 2018, 124: 86-91.
- [18] 樊浩, 何嘉鸿, 韦霞, 等. 海洋本草软珊瑚共附生真菌  
*Aspergillus* sp. EGF7-0-1 中酚酸类化学成分研究 (II)  
[J]. *热带海洋学报*, 2023, 42(5): 171-177.

[责任编辑 王文倩]