

缬草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 中 1 个新的丁烯内酯类化合物

王 鑫, 禹梦欣, 吴怡轩, 赵丽媛, 张可桢, 李玉泽, 张东东, 王 薇, 宋小妹, 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 *Valeriana officinalis* 内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 大米高盐培养基中抗真菌次生代谢产物。方法 采用硅胶和 ODS 柱色谱以及半制备液相色谱等方法进行分离纯化, 并结合其理化性质及核磁共振 (NMR)、红外 (IR)、质谱 (MS) 等波谱学技术进行结构解析。采用菌丝生长速率法测定了所有化合物对木瓜炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的抗真菌活性。**结果** 从 *Aspergillus* sp. FH-2 菌株的醋酸乙酯提取部位分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为 3-methoxy-4'-hydroxyphenyl-5-[4''-hydroxy-3''-(9''-hydroxy-3''-methylbutyl)benzyl]-2-oxo-2,5-dihydrofuran-5-carboxylate (1)、桔青霉三酚 A (2)、大黄素 (3)、7-hydroxy-3-(2-hydroxypropyl)-5-methyl-isochromen-1-one (4)、2,5-dimethyl-7-hydroxychromone (5)、2,4-dihydroxy-3-methylacetophenone (6)、2,4-dihydroxy-5-methylacetophenone (7) 和 4-acetyl-resorcinol (8)。其中, 化合物 1、2、4、7 对木瓜炭疽病菌抑制作用的半数有效浓度 (half-maximal effective concentration, EC₅₀) 值分别为 85.14、66.18、81.45、74.68 μg/mL。**结论** 化合物 1 为新化合物, 命名为 3-甲氧基-曲霉丁烯内酯 B (3-methoxy-aspernolide B)。抗真菌活性研究表明, 化合物 1、2、4 和 7 对木瓜炭疽病菌表现出中等抑制效果。

关键词: 缬草; *Aspergillus* sp. FH-2; 分离纯化; 结构鉴定; 3-甲氧基-曲霉丁烯内酯 B; 抗真菌

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)18-6515-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.18.003

A new butenolide from endophytic fungus *Aspergillus* sp. FH-2 of *Valeriana officinalis*

WANG Xin, YU Mengxin, WU Yixuan, ZHAO Liyuan, ZHANG Kezhen, LI Yuze, ZHANG Dongdong, WANG Wei, SONG Xiaomei, FAN Hao

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

Abstract: Objective To investigate antifungal secondary metabolites produced by the endophytic fungus *Aspergillus* sp. FH-2, isolated from Xiecao (*Valeriana officinalis*) and cultured on a high-salt rice medium. **Methods** Compounds were isolated and purified using silica gel and ODS column chromatography, semi-preparative HPLC, and related techniques. Their structures were elucidated through analysis of physicochemical properties and spectroscopic data, including nuclear magnetic resonance (NMR), infrared (IR), and mass spectrometry (MS). The antifungal activities of all compounds against *Colletotrichum gloeosporioides*, a papaya anthrax pathogen, were determined by the mycelial growth rate method. **Results** A total of eight compounds were obtained from the ethyl acetate extract of the *Aspergillus* sp. FH-2 strain. They were identified as 3-methoxy-4'-hydroxyphenyl-5-[4''-hydroxy-3''-(9''-hydroxy-3''-methylbutyl)benzyl]-2-oxo-2,5-dihydrofuran-5-carboxylate (1), penicillocitrin A (2), emodin (3), 7-hydroxy-3-(2-hydroxypropyl)-5-methylisochromen-1-one (4), 2,5-dimethyl-7-hydroxychromone (5), 2,4-dihydroxy-3-methylacetophenone (6), 2,4-dihydroxy-5-methylacetophenone (7), and 4-acetyl-resorcinol (8). Compounds 1, 2, 4 and 7 for the inhibitory effect on *C. gloeosporioides* exhibited the half-maximal effective concentration (EC₅₀) values of 85.14, 66.18, 81.45 and 74.68 μg/mL, respectively. **Conclusion** Compound 1 is a new compound designated 3-methoxy-aspernolide B. Compounds 1, 2, 4 and 7 demonstrated moderate antifungal activity against *C. gloeosporioides*.

收稿日期: 2025-06-15

基金项目: 国家中医药管理局重点学科项目 (zyydxk-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: 王 鑫, 本科生, 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

Key words *Valeriana officinalis* L.; *Aspergillus* sp. FH-2; isolation and purification; structural elucidation; 3-methoxy-aspernolide B; antifungal

真菌性病害严重损害主要经济作物的生长发育、产量以及品质，并造成重大的经济损失^[1]。针对此类病害的有效防控，开发兼具高效、低毒和环境友好特性的新型抑菌剂，已成为当前农业领域亟待解决的迫切需求^[2-4]。在这一背景下，植物内生真菌因其独特的生态位而受到广泛关注，其代谢产物的研究，特别是结构新颖多样的次生代谢产物，是发现天然活性物质的重要方向^[5-6]。值得注意的是，这些次生代谢产物展现出显著的生物活性，尤其在抗菌领域表现优异，为其在农业病害绿色防控以及医药应用方面提供了广阔的前景^[7-8]。

作为长期从事抗真菌活性成分研究的一部分^[9-10]，本研究对一株陕西秦岭太白山来源的缬草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 中抗真菌次生代谢产物进行

研究。从该菌株大米高盐培养基的醋酸乙酯部位分离得到 8 个化合物，分别鉴定为 3-methoxy-4'-hydroxy-phenyl-5-[4''-hydroxy-3''-(9''-hydroxy-3''-methylbutyl)benzyl]-2-oxo-2,5-dihydrofuran-5-carboxylate (**1**)、桔青霉三酚 A (penicillocitrin A, **2**)、大黄素 (emodin, **3**)、7-hydroxy-3-(2-hydroxypropyl)-5-methyl-isochromen-1-one (**4**)、2,5-dimethyl-7-hydroxychromone (**5**)、2,4-dihydroxy-3-methylacetophenone (**6**)、2,4-dihydroxy-5-methylacetophenone (**7**) 和 4-acetyl-resorcinol (**8**)，见图 1。其中，化合物 **1** 为新化合物，命名为 3-甲氧基-曲霉丁烯内酯 B。抗真菌实验结果显示，化合物 **1**、**2**、**4** 和 **7** 表现出中等抑制效果，其半数有效浓度 (half-maximal effective concentration, EC₅₀) 值分别为 85.14、66.18、81.45、74.68 μg/mL。

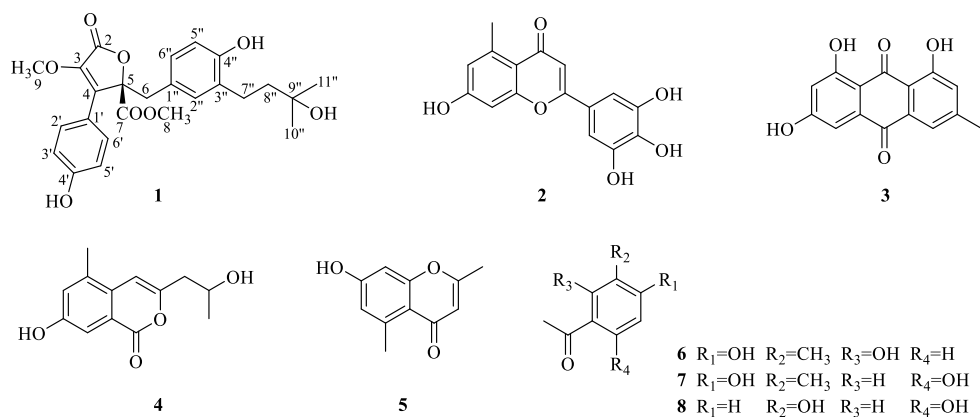


图 1 化合物 1~8 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compounds 1—8

1 仪器与材料

LC-6AD 型半制备液相色谱仪 (日本岛津公司, SPD-20A 型紫外可见光检测器), AVANCE 型核磁共振波谱仪 (德国 Burker 公司), Triple TOFTM 5600⁺ 高分辨液质联用仪 (美国 AB SCIEX 公司), IRAfinity-1 型傅里叶变换红外光谱仪 (日本岛津公司), 紫外分析仪 (常州恩培仪器制造有限公司), 圆二色谱仪 (英国 Applied PhotoPhysics 公司), Welch Ultimate XB-C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm), 旋光分析仪 (上海仪电物理光学仪器有限公司), RV10 旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司), 超净工作台 (苏州净化设备厂), 柱色谱用硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工有限公司), 色谱甲醇

(天津市科密欧化学试剂有限公司), 分析甲醇、二氯甲烷、醋酸乙酯 (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 (Carbendazim) 购自陕西宝来生生物科技有限公司。海盐、大米、土豆 (市场购买), 娃哈哈纯净水。

2 方法

2.1 菌株来源

Aspergillus sp. FH-2 是从陕西秦岭太白山缬草新鲜根茎中分离得到, 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 *V. officinalis* L. 的根茎。对菌株 *Aspergillus* sp. FH-2 进行 DNA 提取, 通过 PCR 扩增真菌核糖体 ITS 基因区段, 将扩序结

果 (GenBank 号: KF367546.1) 与 NCBI 网站的 GenBank 数据库中已知序列进行比对, 鉴定判断其为 *Aspergillus* sp.。现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 培养发酵

将 *Aspergillus* sp. FH-2 接种于无菌 PDA 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 °C、165 r/min) 振荡培养 2 d, 获得种子液。取该种子液 10 mL, 接种于大米培养基 (大米 100 g/瓶、水 115 mL/瓶、盐度 6.5%) 的 1 L 培养瓶中, 于 25 °C 条件下静置培养 30 d。此大规模培养过程总体积为 50 L。

2.3 提取与分离

培养结束后, 向各培养瓶中加入 250 mL 醋酸乙酯灭活, 并置于摇床上以 165 r/min 振幅, 振摇提取 8 h。滤过收集浸提液, 合并醋酸乙酯相并经减压浓缩处理, 获得醋酸乙酯浸膏 35 g。将醋酸乙酯部位经硅胶柱色谱分离, 采用二氯甲烷-甲醇 (80:1-1:1) 进行梯度洗脱, 得到 6 个组分 F.1~F.6。F.2 (9.5 g) 经 ODS 柱色谱分离, 采用甲醇-水 (20:80-100:0) 进行梯度洗脱, 得到 5 个组分 F.2-1~F.2-5。F.2-2 (0.5 g) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 35:65, 体积流量 2 mL/min) 分离得到化合物 **6** ($t_R=9.5$ min, 8.5 mg)、**7** ($t_R=13.5$ min, 11.0 mg) 和 **8** ($t_R=22.5$ min, 7.5 mg)。F.2-3 (1.1 g) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 55:45, 体积流量 2 mL/min) 分离得到化合物 **2** ($t_R=16.0$ min, 15.0 mg) 和 **3** ($t_R=24.5$ min, 10.5 mg)。F.2-4 (1.2 g) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 60:40, 体积流量 2 mL/min) 分离得到化合物 **1** ($t_R=22.5$ min, 14.5 mg)。F.2-5 (0.5 g) 经半制备液相色谱 (甲醇-水 65:35, 体积流量 2 mL/min) 分离得到化合物 **4** ($t_R=27.5$ min, 16.5 mg) 和 **5** ($t_R=34.0$ min, 9.2 mg)。

2.4 量子化学 ECD 计算

化合物 **1** 的随机构象搜索采用 SYBYL X 2.1.1 程序完成, 使用 MMFF94s 分子力场, 并设置高于全局最小值 10 kcal/mol 的能量截断值, 共得到 12 个构象。随后, 在 Gaussian 09 软件中, 采用 B3LYP/6-31+G(d)理论水平进行构象优化, 得到 7 个稳定构象。在甲醇溶剂环境下, 同样在 B3LYP/6-31+G(d)理论水平上, 对优化后的稳定构象进行了进一步电子圆二色谱 (electronic circular dichroism, ECD) 计

算。通过玻尔兹曼分布对各构象的 ECD 谱图进行权重加和获得, 随后分别与实验测得的 ECD 谱图进行比较。所有理论 ECD 谱图均通过 SpecDis 1.70.1 软件生成^[9-10]。

2.5 抗真菌活性实验

采用菌丝生长速率法测定, 在 100、50、25、12.5、6.25 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度梯度下, 初步评价了化合物对木瓜炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的抗真菌活性。采用 3 组平行实验设计, 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 °C 恒温培养 3 d 后, 以多菌灵 (Carbendazim) 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。以药剂浓度对数为横坐标, 菌丝生长抑制率为纵坐标进行回归分析, 计算化合物对病原菌菌株的 EC_{50} ^[9]。

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)

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色油胶状, $[\alpha]_D^{25} + 58.9$ (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 197 (2.62), 307 (3.42); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 323, 1 737, 1 608, 1 259; HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 m/z : 455.170 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 455.170 6), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_8$, 不饱和度为 12。根据 ^{13}C -NMR 及 DEPT 谱图信息综合分析 (25 个 C: 4 个 CH_3 、3 个 CH_2 、7 个 CH 、11 个 C)。NMR 谱图显示存在 1 个对位取代芳基 (A_2B_2 体系) [δ_{H} 7.59 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'); 6.85 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'); δ_{C} 130.3 (CH, C-2', 6'), 116.6 (CH, C-3', 5'), 123.5 (C, C-1') 和 159.2 (C, C-4')], 1 个 ABX 体系芳环 [δ_{H} 6.48 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5''), 6.52 (1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, H-6''), 6.41 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2''); δ_{C} 125.2 (C, C-1''), 132.9 (CH, C-2''), 129.4 (C, C-3''), 155.3 (C, C-4''), 115.2 (CH, C-5''), 129.7 (CH, C-6'')], 2 个羰基碳 [δ_{C} 170.7 (C, C-2), 171.7 (C, C-7)], 1 个全取代五元 α, β 不饱和内酯环 [δ_{C} 170.7 (C, C-2), 140.3 (C, C-3), 128.7 (C, C-4), 86.9 (C, C-5)] 和 3 个亚甲基信号 [δ_{H} 3.38 (1H, d, $J=14.5$ Hz, H-6a), 3.47 (1H, d, $J=14.5$ Hz, H-6b), 1.52 (1H, m, H-7'') 和 2.29 (1H, ddd, $J=13.5, 12.0, 5.2$ Hz, H-8''a), 2.45 (1H, ddd, $J=13.5, 12.0, 5.2$ Hz, H-8''b); δ_{C} 39.5 (CH_2 , C-6)、25.2 (CH_2 ,

C-7'') 和 40.0 (CH₂, C-8'')。根据以上官能团信息说明化合物 **1** 与已知化合物 aspernolide B 极为相似, 提示它们可能存在相同的结构片段^[1]。化合物 **1** 与 aspernolide B 相比只增加了 1 个甲基信号 δ_{H} 3.18 (3H, s, H-9), δ_{C} 49.4 (C-9)。

进一步分析 2D NMR 数据, HSQC 将化合物 **1** 的 NMR 数据给予归属 (表 1)。¹H-¹H-COSY 谱图 (图 2) 中存在 3 个简单二碳相连的相关关系: H-

2'(6')/H-3'(5')、H-5''/H-6''和 H-7''/H-8''。HMBC 谱中 H-6/C-4、C-5、C-7、C-6''; H-7''/C-3''、C-4''及 C-9''; H-8''/C-3''、C-9''; H-11''/C-8''、C-9''、C-10''; H-9/C-3; H-8/C-7; H-2'/C-4; H-3'/C-1'、C-5'及 H-5''/C-1''、C-3''的关键相关关系, 确定化合物 **1** 的平面结构 (图 2)。通过量子化学 ECD 计算确定 C-5 的绝对构型为 5R (图 3)。经 SciFinder 检索未见报道, 确定其为新化合物, 命名为 3-甲氧基-曲霉丁烯内酯 B。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-和 ¹³C-NMR 核磁数据 (400/100 MHz, CD₃OD)

Table 1 ¹H- and ¹³C NMR nuclear magnetic resonance data of compound **1** (400/100 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C} , type	碳位	δ_{H}	δ_{C} , type
2		170.7, C	1''		125.2, C
3		140.3, C	2''	6.41 (d, $J = 2.0$ Hz)	132.9, CH
4		128.7, C	3''		129.4, C
5		86.9, C	4''		155.3, C
6	3.38 (d, $J = 14.5$ Hz) 3.47 (d, $J = 14.5$ Hz)	39.5, CH ₂	5''	6.48 (d, $J = 8.2$ Hz)	115.2, CH
7		171.7, C	6''	6.52 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz)	129.7, CH
8	3.79 (s)	53.8, CH ₃	7''	1.52 (m)	25.2, CH ₂
9	3.18 (s)	49.4, CH ₃	8''	2.45 (ddd, $J = 13.5, 12.0, 5.2$ Hz) 2.29 (ddd, $J = 13.5, 12.0, 5.2$ Hz)	40.0, CH ₂
1'		123.5, C	9''		76.3, C
2'/6'	7.59 (d, $J = 8.8$ Hz)	130.3, CH	10''	1.16 (s)	25.6, CH ₃
3'/5'	6.85 (d, $J = 8.8$ Hz)	116.6, CH	11''	1.17 (s)	25.6, CH ₃
4'		159.2, C			

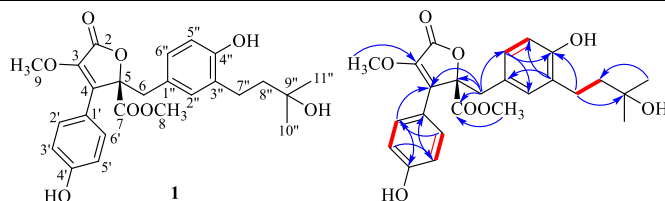


图 2 化合物 **1** 的结构和主要 ¹H-¹H-COSY (—)、关键 HMBC (---) 相关示意图

Fig. 2 Structure of compound **1** and main ¹H-¹H-COSY (—) and key HMBC (---) correlations

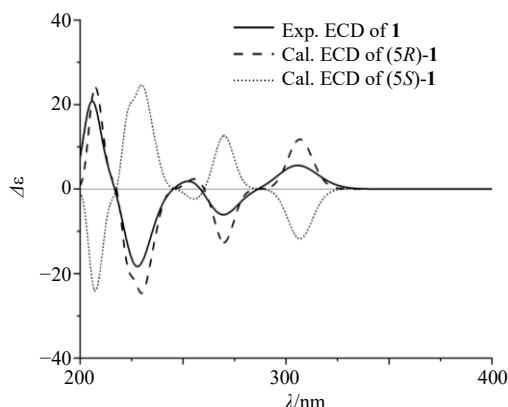


图 3 化合物 **1** 的实测和计算 ECD 谱图

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

化合物 **2**: 淡黄色粉末, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 299.056 2 [M-H]⁻ (计算值 299.055 6), 结合 1D NMR 确定其分子式为 C₁₆H₁₂O₆。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.23 (1H, s, H-3), 6.31 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.28 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.34 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-9), 6.22 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-14), 2.23 (3H, s, 15-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 165.6 (C-2), 112.2 (C-3), 182.5 (C-4), 112.1 (C-4a), 139.3 (C-5), 109.8 (C-6), 160.7 (C-7), 101.2 (C-8), 157.2 (C-8a), 105.2 (C-9), 94.8 (C-10), 160.1 (C-11), 161.9 (C-12), 165.2 (C-13), 99.5 (C-14), 20.4 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故确定化合物 **2** 为桔青霉三酚 A。

化合物 **3**: 淡黄色固体, HR-ESI-MS 给出准分子

离子峰 m/z : 269.046 3 $[M-H]^-$ (计算值 269.045 0), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.15 (1H, s, H-2), 7.49 (1H, s, H-4), 7.15 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 6.66 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-7), 2.32 (3H, s, 11- CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 161.6 (C-1), 113.4 (C-2), 147.5 (C-3), 120.1 (C-4), 132.1 (C-4a), 108.3 (C-5), 165.8 (C-6), 107.7 (C-7), 164.2 (C-8), 107.9 (C-8a), 189.2 (C-9), 112.5 (C-9a), 180.8 (C-10), 134.1 (C-10a), 21.2 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故确定化合物 **3** 为大黄素。

化合物 **4**: 白色固体, $[\alpha]_D^{25} + 23.5$ (c 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 m/z : 233.081 0 $[M-H]^-$ (计算值 233.081 4), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $C_{13}H_{14}O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.89 (1H, s, H-4a), 6.61 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.63 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 2.59 (1H, dd, $J = 14.0, 7.0$ Hz, H-9a), 2.60 (1H, dd, $J = 14.0, 5.0$ Hz, H-9b), 4.09 (1H, m, H-10), 1.19 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, 11- CH_3), 2.49 (3H, s, 12- CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 177.6 (C-1), 164.5 (C-3), 111.4 (C-4), 114.1 (C-4a), 141.3 (C-5), 116.8 (C-6), 160.7 (C-7), 99.9 (C-8), 158.9 (C-8a), 42.2 (C-9), 64.8 (C-10), 23.5 (C-11), 20.2 (C-12)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故确定化合物 **4** 为 7-hydroxy-3-(2-hydroxypropyl)-5-methyl-isochromen-1-one。

化合物 **5**: 淡黄色固体, $[\alpha]_D^{25} + 58.9$ (c 0.10, MeOH), HR-ESI-MS 给出的准分子离子峰 m/z : 198.054 9 $[M-H]^-$ (计算值 198.055 2), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $C_{11}H_{10}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.35 (1H, s, H-5), 6.37 (1H, s, H-7), 2.30 (3H, s, 10- CH_3), 2.49 (3H, s, 11- CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 182.6 (C-1), 116.2 (C-2), 164.5 (C-3), 161.1 (C-4), 98.3 (C-5), 163.8 (C-6), 114.5 (C-7), 142.9 (C-8), 115.2 (C-9), 19.7 (C-10), 22.9 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故确定化合物 **5** 为 2,5-dimethyl-7-hydroxychromone。

化合物 **6**: 淡黄色固体, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 165.054 9 $[M-H]^-$ (计算值 165.055 2), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $C_9H_{10}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.11 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.62 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 2.60 (3H, s, 8- CH_3), 2.19 (3H, s, 9- CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 114.6 (C-1), 164.2 (C-2), 111.5 (C-3), 164.1 (C-4), 108.3 (C-

5), 129.8 (C-6), 201.7 (C-7), 26.9 (C-8), 8.2 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故确定化合物 **6** 为 2,4-dihydroxy-3-methylacetophenone。

化合物 **7**: 淡黄色固体, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 165.055 0 $[M-H]^-$ (计算值 165.055 2), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $C_9H_{10}O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.72 (1H, s, H-2), 6.41 (1H, s, H-5), 2.59 (3H, s, 8- CH_3), 2.18 (3H, s, 8- CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 134.6 (C-1), 112.2 (C-2), 116.7 (C-3), 164.2 (C-4), 102.2 (C-5), 164.0 (C-6), 201.6 (C-7), 26.8 (C-8), 14.2 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故确定化合物 **7** 为 2,4-dihydroxy-5-methylacetophenone。

化合物 **8**: 淡黄色固体, HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 151.038 2 $[M-H]^-$ (计算值 151.039 5), 结合 1D NMR 确定其分子式为 $C_8H_8O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.42 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 6.53 (1H, dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, H-5), 7.81 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 2.61 (3H, s, 8- CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 114.6 (C-1), 164.3 (C-2), 104.1 (C-3), 164.3 (C-4), 108.5 (C-5), 134.8 (C-6), 201.9 (C-7), 26.8 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故确定化合物 **8** 为 4-acetyl-resorcinol。

3.2 抗真菌活性

对化合物 **1~8** 进行抗真菌活性测试。结果表明, 化合物 **1**、**2**、**4** 和 **7** 对木炭炭疽杆菌具有中等抑制效果, EC_{50} 分别为 (85.14 ± 0.75) 、 (66.18 ± 0.15) 、 (81.45 ± 0.45) 、 (74.68 ± 0.53) $\mu g/mL$ 。化合物 **3**、**5**、**6** 和 **8** 对木炭炭疽杆菌未表现出抑制活性。

4 讨论

本研究对缙草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-2 在 大米高盐培养基中产生的抗真菌活性次生代谢产物进行研究。通过该菌株醋酸乙酯提取部位系统的分离纯化, 分离并鉴定了 8 个化合物, 其中化合物 **1** 为新丁烯内酯类化合物, 命名为 3-甲氧基-曲霉丁烯内酯 B。在评估所分离化合物的抗真菌活性中, 本研究采用菌丝生长速率法测定木炭炭疽杆菌的抑制活性。结果显示, 化合物 **1**、**2**、**4** 和 **7** 表现出中等抑制效果, 其 EC_{50} 值分别为 (85.14 ± 0.75) 、 (66.18 ± 0.15) 、 (81.45 ± 0.45) 、 (74.68 ± 0.53) $\mu g/mL$ 。

天然产物抑菌剂 (来源于植物、微生物或其他自然材料), 相比化学合成的抑菌剂更环保, 对环境、人体和生态系统影响较小, 有利于可持续农业

发展^[19], 且不容易导致病原体产生抗药性, 可以有效延缓抗药性的发展。目前, 使用天然产物已被证明是开发绿色高效杀菌剂的有效途径。这些天然产物作为抗真菌候选物质展示了巨大潜力, 激发了新型杀菌剂的开发。它们多样性的结构、独特的作用机制和良好的环境适应性也为开发具有药用和杀虫剂特性的小分子药物提供了模板^[20]。本课题组前期在对天然来源丁烯内酯类化合物的系统综述和研究中表明, 目前文献报道的此类化合物总数为 176 个, 其具有对抗真菌活性、心血管保护及 α -葡萄糖苷酶抑制作用等生理活性^[9,21]。3-甲氧基-曲霉丁烯内酯 B 的发现不仅扩充了该家族化合物的结构多样性, 还展现出的中等抗真菌活性。其作为天然产物生物可降解性更高、非靶标生物毒性及生产过程中碳足迹显著降低。这些特性使其对土壤微生物群落平衡干扰更小, 提示此类成分具有作为开发新型高效、环境友好型抗真菌药物或农用杀菌剂先导分子的潜力。

致谢: 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。

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, 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] 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] Nguyen M V, Han J W, Dang Q L, *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] Parvatkar R R, D'Souza C, Tripathi A, *et al.* Aspernolides A and B, butenolides from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(1): 128-132.
- [12] Li X L, Zhang L, Liu Y H, *et al.* A new metabolite from the endophytic fungus *Penicillium citrinum* [J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(5): 1934578X1300800510.
- [13] Gill M, Gimenez A, Mckenzie R W. Pigments of fungi .8. bianthraquinones from dermocybe-austroveneta [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(6): 1251-1256.
- [14] Wang Q X, Bao L, Yang X L, *et al.* Polyketides with antimicrobial activity from the solid culture of an endolichenic fungus *Ulocladium* sp. [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(1): 209-214.
- [15] Kashiwada Y, Nonaka G, Nishioka I. Studies on rhubarb (*Rhei Rhizoma*). VI. isolation and characterization of stilbenes [J]. *Chem Pharm Bull*, 1984, 32(9): 3501-3517.
- [16] Ren S Y, Yan Y, Zhou Y R, *et al.* Genome mining of nonenzymatic ortho-quinone methide-based pseudonatural products from ascidian-derived fungus *Diaporthe* sp. SYSU-MS4722 [J]. *Bioorg Chem*, 2025, 154: 108081.
- [17] Wang J F, Liu P P, Wang Y, *et al.* Antimicrobial aromatic polyketides from Gorgonian-associated fungus, *Penicillium commune* 518 [J]. *Chin J Chem*, 2012, 30(6): 1236-1242.
- [18] Huang H R, Xia X K, She Z G. *et al.* 1-(2,6-Dihydroxyphenyl) ethanone [J]. *Acta Crystallogr E*, 2004, 60(12): 2509-2512.
- [19] Seepe H A, Nxumalo W, Amoo S O. Natural products from medicinal plants against phytopathogenic *Fusarium* species: Current research endeavours, challenges and prospects [J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6539.
- [20] Fan H, Wang L, Zhang Z K, *et al.* Bioactive aspergteroids G-J from soft-coral-associated symbiotic and epiphytic fungus *Aspergillus terreus* EGF7-0-1 [J]. *Bioengineering*, 2023, 10(7): 805.
- [21] Fan H, Wei X, Si-Tu M X, *et al.* γ -Aromatic butenolides of microbial source - A review of their structures, biological activities and biosynthesis [J]. *Chem Biodivers*, 2022, 19(6): e202200208.

[责任编辑 王文倩]