

缬草药材内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-1 中 1 个新的氯代丁烯内酯类化合物

樊浩, 王鑫, 禹梦欣, 吴怡轩, 赵丽媛, 张可桢, 李玉泽, 王薇, 宋小妹, 张东东*
(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] 研究缬草药材内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-1 大米高盐培养基中抗真菌次生代谢产物及其抗菌活性。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 NMR、IR、MS 等波谱学技术进行结构解析。采用菌丝生长速率法测定所有化合物对番木瓜炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的抗真菌活性。从 *Aspergillus* sp. FH-1 菌株的乙酸乙酯提取部位分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为 asperchoried A (1)、butyrolactone II (2)、isobutyrolactone II (3)、aspernolide A (4)、butyrolactone V (5)、clavatone (6)、1-羟基-6,8-二甲氧基-3-甲基蒽-9,10-二酮 (7)、(S)-7-甲氧基-2,5-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-6-醇 (8), 其中化合物 1 为氯代丁烯内酯类新化合物。化合物 1、2、6、7 抑制番木瓜炭疽病菌活性的 EC_{50} 分别为 15.08、77.19、89.94、62.02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 表现出抑制番木瓜炭疽病菌活性。

[关键词] 缬草; *Aspergillus* sp. FH-1; 分离纯化; 结构鉴定; asperchoried A; 抗真菌

A new chlorinated butenolide from endophytic fungus *Aspergillus* sp. FH-1 of *Valeriana officinalis*

FAN Hao, WANG Xin, YU Meng-xin, WU Yi-xuan, ZHAO Li-yuan, ZHANG Ke-zhen, LI Yu-ze, WANG Wei,
SONG Xiao-mei, ZHANG Dong-dong*
(Shaanxi Key Laboratory of Research and Application of "Taibai Qi Yao", School of Pharmacy,
Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

[Abstract] This study aims to investigate the antifungal secondary metabolites produced by the endophytic fungus *Aspergillus* sp. FH-1 isolated from *Valeriana officinalis* via a high-salt rice medium. Compounds were isolated and purified by silica gel and ODS column chromatography, semi-preparative HPLC, and other techniques. The chemical structures were elucidated through analysis of physicochemical properties and spectroscopic data of nuclear magnetic resonance (NMR), infrared (IR), and mass spectrometry (MS). The inhibitory effects of all the compounds against *Colletotrichum gloeosporioides* were evaluated via the mycelial growth rate method. Eight compounds were obtained from the ethyl acetate extract of *Aspergillus* sp. FH-1. They were identified as asperchoried A (1), butyrolactone II (2), isobutyrolactone II (3), aspernolide A (4), butyrolactone V (5), clavatone (6), 1-hydroxy-6,8-dimethoxy-3-methylanthracene-9,10-dione (7), and (S)-7-methoxy-2,5-dimethyl-2,3-dihydrobenzofuran-6-ol (8). Among them, compound 1 is a novel chlorinated butanolide derivative and was designated asperchoried A. Compounds 1, 2, 6, and 7 possessed inhibitory effects on *C. gloeosporioides*, with EC_{50} values of 15.08, 77.19, 89.94, and 62.02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively.

[Key words] *Valeriana officinalis*; *Aspergillus* sp. FH-1; isolation and purification; structural elucidation; asperchoried A; antifungal effect

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20251010.202

[收稿日期] 2025-06-12

[基金项目] 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); 陕西省教育厅科学研究项目 (25JK0430)

[通信作者] * 张东东, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质基础研究, E-mail: zhangnatprod@163.com

[作者简介] 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

真菌病害严重威胁着我国农业生产,对主要经济作物的生长、产量及品质造成显著损害,导致重大的经济损失^[1]。因此,开发新型、高效、低毒且环境友好的杀菌剂,以有效防控此类病害,已成为当前农业领域的迫切需求^[2-4]。植物内生真菌作为一类与宿主植物共生且不引发显性病害的微生物,其代谢产物研究是天然药物开发的重要方向^[5-6]。研究表明,植物内生真菌的次生代谢产物不仅结构新颖多样,更展现出显著的生物活性,尤其在抑菌活性方面表现突出,在农业病害防治及医药领域具有广阔的应用前景^[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

药材内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-1 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乙酸乙酯部位中分离得到 8 个化合物,分别为 asperchored A (1)、butyrolactone II (2)、isobutyrolactone II (3)、aspernolide A (4)、butyrolactone V (5)、clavaton (6)、1-羟基-6,8-二甲氧基-3-甲基萹-9,10-二酮 (7)、(S)-7-甲氧基-2,5-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-6-醇 (8) (图 1),其中,化合物 1 为自然界首个氯代丁烯内酯类新化合物。抗番木瓜炭疽病菌实验结果显示,化合物 1 抑制作用高于阳性药多菌灵 3.3 倍,其 EC_{50} 为 $15.08 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,化合物 2、6、7 也表现出了中等抑制效果,其 EC_{50} 分别为 77.19、89.94、62.02 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

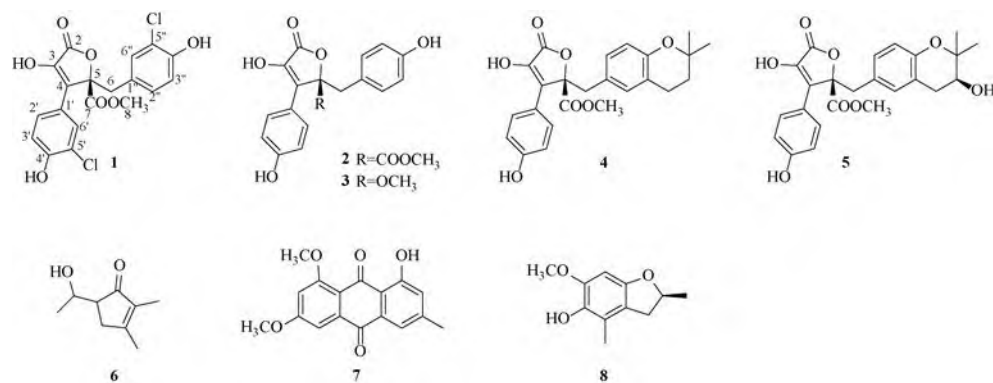


图 1 化合物 1~8 的结构

Fig. 1 Structure of compounds 1-8

1 材料

LC-6AD 型半制备液相色谱仪(日本岛津公司,SPD-20A 紫外-可见光检测器);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 旋转蒸发器(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、乙酸乙酯(天津市天力化学试剂有限公司);番木瓜炭疽病菌(广东省农业科学院果树研究所);海盐、大米、土豆(市场购买);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法

2.1 菌株来源 *Aspergillus* sp. FH-1 是从陕西秦岭太白山缬草药材新鲜根茎中分离得到,该药材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 *Valeriana officinalis* L. 的根茎。对菌株 *Aspergillus* sp. FH-1 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: KU504316.1)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-1 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 $^{\circ}\text{C}$, 165 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$)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(每瓶 100 g 大米、115 mL 水, 盐度 6.0%)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 100 L。

2.3 提取分离 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, 合并乙酸乙酯相并经减压浓缩处理, 获得乙酸乙酯浸膏 60 g。将乙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. 4(20.3 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 4 个组分 F. 4-1~F. 4-4。F. 4-2(1.5 g)经半制备液相(甲醇-水 55:45)分离得到化合物 **3**(t_R = 14.5 min, 15.5 mg)、**4**(t_R = 19.5 min, 9.0 mg)、**5**(t_R = 21.5 min, 13.2 mg)。F. 4-3(1.9 g)经半制备液相(甲醇-水 55:45)分离得到化合物 **1**(t_R = 25.0 min, 5.1 mg)、**2**(t_R = 30.5 min, 9.0 mg)。F. 4-4(2.6 g)经半制备液相(甲醇-水 65:35)分离得到化合物 **6**(t_R = 15.5 min, 6.0 mg)、**7**(t_R = 21.0 min, 12.0 mg)。F. 3(12.5 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. 3-1~F. 3-5。F. 3-4(2.5 g)经半制备液相(甲醇-水 65:35)分离得到化合物 **8**(t_R = 16.5 min, 6.5 mg)。

2.4 抗真菌活性 采用菌丝生长速率法评价不同浓度复合溶液对番木瓜炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的抗真菌活性。将不同浓度(每个浓度设置 3 个重复)的复合溶液倾倒入培养皿中备用。以含无菌水的 PDA 培养基平板作为对照, 多菌灵作为阳性对照。取培养好的病原菌菌落, 使用无菌打孔器制备菌饼, 并接种于 PDA 平板中央。接种后的平板置于 28 °C 恒温培养箱中培养 3 d。培养结束后, 通过十字交叉法测量菌落直径, 并计算菌丝生长抑制率 = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 菌病直径)] × 100%。

3 结构鉴定

化合物 1 淡黄色油胶状, $[\alpha]_D^{25} + 66.9^\circ$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 198 (2.42), 304 (3.33) nm; IR (neat) ν_{max} : 3 398, 1 732, 1 267 cm^{-1} ; HR-ESI-MS 给出 1 组准分子离子峰 $[M-H]^-$ 及其同位素峰信息 $[M-H+2]^-$ 和 $[M-H+4]^-$ 为 m/z 423.001 5、424.999 6、426.997 6 (计算值为 $C_{19}H_{13}Cl_2O_7$, 423.003 8), 且 $[M-H]^-$ 、 $[M-H+452$

$2]^-$ 、 $[M-H+4]^-$ 的丰度比为 9:6:1, 结合 1D NMR 确定分子式为 $C_{19}H_{14}Cl_2O_7$, 不饱和度为 12。

根据 ^{13}C -NMR 及 DEPT 谱图信息综合分析(19 个 C: 1 个 CH_3 、1 个 CH_2 、6 个 CH 、11 个 C)。NMR 谱图显示存在 2 个 ABX 体系芳环 [δ_H 7.00 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-3'), 7.43 (1H, dd, J = 8.7, 2.2 Hz, H-2'), 7.78 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6'); δ_C 124.0 (C, C-1'), 128.1 (CH, C-2'), 117.7 (CH, C-3'), 155.0 (C, C-4'), 122.3 (C, C-5'), 130.6 (CH, C-6')] 和 [δ_H 6.66 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-3''), 6.58 (1H, dd, J = 8.3, 2.2 Hz, H-2''), 6.75 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6''); δ_C 126.5 (C, C-1''), 130.9 (CH, C-2''), 116.9 (CH, C-3''), 153.4 (C, C-4''), 120.9 (C, C-5''), 132.7 (CH, C-6'')] 2 个羰基碳 [δ_C 169.6 (C, C-2), 171.1 (C, C-7)], 1 个全取代五元 α, β 不饱和内酯环 [δ_C 169.6 (C, C-2), 140.7 (C, C-3), 127.3 (C, C-4), 86.4 (C, C-5)] 和 1 个亚甲基信号 [δ_H 3.45 (2H, d, J = 4.3 Hz, H-6); δ_C 39.1 (CH_2 , C-6)], 根据以上官能团信息说明化合物 **1** 为丁烯内酯类化合物^[9-10]。HSQC 将化合物 **1** 的 NMR 数据给予归属(表 1)。 1H - 1H COSY 谱图中存在 2 个简单二碳相连的相关关系: H-2'/H-3' 和 H-2''/H-3''。HMBC 谱中可见 H-6/C-4、C-5、C-6''; H-8/C-7; H-2'/C-4; H-3'/C-1、C-5' 及 H-3''/C-1''、C-5'' 的关键相关信号, 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, 确定其为新化合物并命名为 asperchoried A。

化合物 2 淡黄色胶状物, HR-ESI-MS m/z 355.083 0 $[M-H]^-$ (计算值 355.081 8), 分子式为 $C_{19}H_{16}O_7$ 。 1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 3.49 (2H, s, H-6), 3.77 (3H, s, 8- OCH_3), 7.62 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.87 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.62 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-2'', 6''), 6.53 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-3'', 5''); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 170.6 (C-2), 140.2 (C-3), 129.5 (C-4), 86.0 (C-5), 39.9 (C-6), 171.9 (C-7), 53.7 (C-8), 123.1 (C-1'), 130.1 (C-2', 6'), 116.4 (C-3', 5'), 159.3 (C-4'), 125.2 (C-1''), 132.7 (C-2'', 6''), 115.7 (C-3'', 5''), 157.5 (C-4'')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故确定化合物 **2** 为 butyrolactone II。

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (CD_3OD , 400/100 MHz)Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound 1 (CD_3OD , 400/100 MHz)

No.	δ_{H} , mult, (J in Hz)	δ_{C} , type	No.	δ_{H} , mult, (J in Hz)	δ_{C} , type
2	—	169.6, C	4'	—	155.0, C
3	—	140.7, C	5'	—	122.3, C
4	—	127.3, C	6'	7.78, d (2.2)	130.6, CH
5	—	86.4, C	1''	—	126.5, C
6	3.45, d (4.3)	39.1, CH_2	2''	6.58, dd (8.3, 2.2)	130.9, CH
7	—	171.1, C	3''	6.66, d (8.3)	116.9, CH
8	3.80, s	54.0, CH_3	4''	—	153.4, C
1'	—	124.0, C	5''	—	120.9, C
2'	7.43, dd (8.7, 2.2)	128.1, CH	6''	6.75, d (2.2)	132.7, CH
3'	7.00, d (8.7)	117.7, CH			

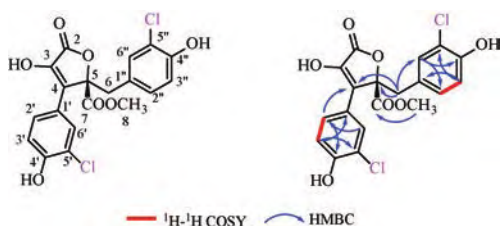
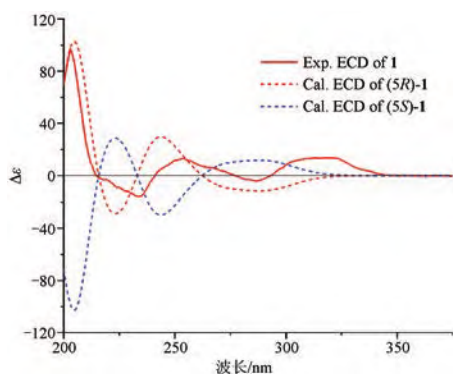
图 2 化合物 1 的化学结构和主要 ^1H - ^1H COSY 与关键 HMBC 相关Fig. 2 Structure and main ^1H - ^1H COSY and key HMBC correlations of compound 1

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 3 淡黄色胶状物, HR-ESI-MS m/z 327.087 9 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (计算值 327.086 9), 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$ 。 ^1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 3.46 (2H, s, H-6), 3.77 (3H, s, 7- OCH_3), 7.62 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.88 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.63 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-2'', 6''), 6.52 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3'', 5''); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 170.1 (C-2), 140.1 (C-

3), 129.8 (C-4), 86.6 (C-5), 39.5 (C-6), 53.7 (C-7), 123.6 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 116.5 (C-3', 5'), 158.6 (C-4'), 125.4 (C-1''), 132.6 (C-2'', 6''), 115.5 (C-3'', 5''), 157.3 (C-4'')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故确定化合物 2 为 isobutyrolactone II。

化合物 4 淡黄色胶状物, HR-ESI-MS m/z 423.143 6 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (计算值 423.142 0), 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_7$ 。 ^1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 3.05 (2H, s, H-6), 3.78 (3H, s, 8- OCH_3), 7.59 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.88 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2''), 6.48 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5''), 6.53 (1H, dd, $J=8.2$, 2.2 Hz, H-6''), 2.56 (2H, m, H-7''), 1.24 (3H, s, 10''- CH_3), 1.24 (3H, s, 11''- CH_3); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 170.2 (C-2), 140.1 (C-3), 129.4 (C-4), 86.5 (C-5), 39.6 (C-6), 171.7 (C-7), 53.7 (C-8), 121.6 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 116.6 (C-3', 5'), 159.6 (C-4'), 123.4 (C-1''), 132.6 (C-2''), 125.5 (C-3''), 154.3 (C-4''), 116.7 (C-5''), 130.3 (C-6''), 23.5 (C-7''), 33.6 (C-8''), 75.5 (C-9''), 27.1 (C-10''), 27.1 (C-11'')。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故确定化合物 4 为 aspernolide A。

化合物 5 淡黄色胶状物, HR-ESI-MS m/z 439.138 7 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (计算值 439.139 3), 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_8$ 。 ^1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 3.45 (2H, s, H-6), 3.78 (3H, s, 8- OCH_3), 7.63 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.98 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.45 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2''), 6.43 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5''), 6.50 (1H, dd, $J=8.0$,

2.0 Hz, H-6''), 2.52 (2H, m, H-7''), 3.67 (2H, m, H-8''), 1.21 (3H, s, 10''-CH₃), 1.21 (3H, s, 11''-CH₃); ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 170.0 (C-2), 140.5 (C-3), 124.4 (C-4), 87.6 (C-5), 39.2 (C-6), 170.7 (C-7), 54.7 (C-8), 129.2 (C-1'), 130.4 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 159.2 (C-4'), 124.7 (C-1''), 131.6 (C-2''), 119.5 (C-3''), 153.8 (C-4''), 115.9 (C-5''), 129.3 (C-6''), 23.5 (C-7''), 70.5 (C-8''), 76.6 (C-9''), 25.7 (C-10''), 19.2 (C-11''). 以上数据与文献报道基本一致^[14],故确定化合物 **5** 为 butyrolactone V。

化合物 **6** 淡黄色胶状物, HR-ESI-MS m/z 153.091 0 [M-H]⁻ (计算值 153.091 6), 分子式为 C₉H₁₄O₂。 ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 2.64 (1H, m, H-4a), 2.46 (1H, m, H-4b), 2.63 (1H, m, H-5), 4.09 (1H, m, H-6), 1.07 (3H, d, $J=6.2$ Hz, 7-CH₃), 1.66 (3H, s, 8-CH₃), 2.12 (3H, s, 9-CH₃); ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ: 211.9 (C-1), 137.0 (C-2), 173.5 (C-3), 34.9 (C-4), 52.4 (C-5), 69.2 (C-6), 18.7 (C-7), 7.7 (C-8), 18.2 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[15],故确定化合物 **6** 为 clavatone。

化合物 **7** 白色胶状物, HR-ESI-MS m/z 297.076 0 [M-H]⁻ (计算值 297.076 3), 分子式为 C₁₇H₁₄O₅。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 14.17 (1H, s, 1-OH), 6.46 (1H, s, H-2), 7.88 (1H, s, H-4), 7.38 (1H, s, H-5), 6.91 (1H, s, H-7), 2.10 (3H, s, 11-CH₃), 3.84 (3H, s, 12-CH₃), 3.98 (3H, s, 13-CH₃); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 165.9 (C-1), 120.2 (C-2), 148.3 (C-3), 121.6 (C-4), 133.9 (C-4a), 105.8 (C-5), 18.7 (C-7), 166.2 (C-6), 105.9 (C-7), 165.8 (C-8), 187.7 (C-9), 116.2 (C-9a), 183.1 (C-10), 135.4 (C-10a), 22.6 (C-11), 57.2 (C-12), 57.6 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[16],故确定化合物 **7** 为 1-羟基-6,8-二甲氧基-3-甲基蒽-9,10-二酮。

化合物 **8** 白色粉末, HR-ESI-MS m/z 193.085 9 [M-H]⁻ (计算值 193.086 5), 分子式为 C₁₁H₁₄O₃。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 1.41 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-1), 4.90 (1H, m, H-2), 3.21 (1H, dd, $J=16.2, 8.5$ Hz, H-3a), 2.65 (1H, dd, $J=$

16.2, 7.5 Hz, H-3b), 3.80 (3H, s, 7-OCH₃), 6.30 (1H, s, H-8), 2.06 (3H, s, 11-CH₃), 3.84 (3H, s, 12-CH₃), 3.98 (3H, s, 13-CH₃); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 22.1 (C-1), 81.2 (C-2), 38.3 (C-3), 114.1 (C-4), 129.3 (C-5), 150.8 (C-6), 142.7 (C-7), 101.3 (C-8), 141.6 (C-9), 56.8 (7-OCH₃), 12.5 (C-10)。以上数据与文献报道基本一致^[17],故确定化合物 **8** 为 (S)-7-甲氧基-2,5-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-6-醇。

4 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、6、7** 对番木瓜炭疽病菌具有抑制效果。其中,化合物 **1** ($EC_{50}=15.08 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 高于阳性对照药多菌灵 ($EC_{50}=49.58 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 3.3 倍。化合物 **3~5、8** 对番木瓜炭疽病菌未表现出抑制活性(表 2)。

表 2 化合物 **1~8** 对番木瓜炭疽病菌菌丝生长 EC_{50}

Table 2 EC_{50} values of compounds **1-8** against the mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides*

化合物	EC_{50}	化合物	EC_{50}
1	15.08	6	89.94
2	77.19	7	62.02
3	>100	8	>100
4	>100	carbendazim	49.58
5	>100		

注:carbendazim 为阳性对照药。

5 总结与讨论

本研究对缙草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-1 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了研究。通过对该菌株乙酸乙酯提取部位进行系统的分离纯化,分离并鉴定了 8 个化合物,其中化合物 **1** 为自然界首个新氯代丁烯内酯类化合物,并命名为 asperchoried A。笔者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约为 176 个^[18-19]。其元素组成相对单一,绝大多数仅含碳(C)、氢(H)、氧(O)元素,少数含氮(N)元素。值得注意的是,含重原子尤其是溴(Br)元素的丁烯内酯极为罕见。迄今为止,有明确文献报道的溴代丁烯内酯类化合物仅 14 个,且均为笔者前期研究所报道^[9]。然而,含氯(Cl)取代的丁烯内酯类化合物此前未见文献记

载。因此,asperchoried A(1)作为自然界首个新氯代丁烯内酯的发现,突破了该类化合物卤素取代仅限于溴元素的单一模式,成功将重原子组成拓展至氯元素,丰富了丁烯内酯类化合物的元素组成。

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番木瓜炭疽病菌的抑制活性。结果显示,氯代丁烯内酯 asperchoried A(1)展现出显著的抗真菌活性,其 EC_{50} 低至 $15.08 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,抑制效力显著高于阳性对照药多菌灵 3.3 倍。此外,化合物 2(butyrolactone II, $EC_{50} = 77.19 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、6(clavatone, $EC_{50} = 89.94 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、7(1-羟基-6,8-二甲氧基-3-甲基萹-9,10-二酮, $EC_{50} = 62.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)也表现出中等的抑制活性。

综上所述,本研究从缙草内生真菌 *Aspergillus* sp. FH-1 中分离鉴定了 8 个代谢产物,其中包括自然界首个新氯代丁烯内酯类新化合物 asperchoried A(1)。该化合物的发现突破了丁烯内酯类化合物在卤素取代上的局限,丰富了其骨架元素多样性。同时,化合物 1 展现出的显著抗真菌活性,以及部分已知化合物(2、6、7)表现出的中等活性,结合与此前笔者报道的溴代丁烯内酯在抗真菌研究中的对比分析,表明卤素原子的引入可显著提高此类化合物的抗真菌效力^[9]。这一发现不仅为后续抗真菌药物的结构修饰提供了关键模板分子(如 asperchoried A),也为抗真菌分子靶向分离与药物设计奠定了重要基础。本研究不仅扩充了曲霉属真菌来源的抗真菌活性成分分子库,也为开发高效、绿色的新型抗真菌药物或农用杀菌剂提供了具有潜力的候选分子。

[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和方法。

[参考文献]

- [1] JOSEMAR G F, GUILHERME C S, LAVINIA C, et al. Control of postharvest fungal diseases in fruits using external application of RNAi [J]. *J Food Sci*, 2021, 86: 3341.
- [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: 6711.
- [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: 4905.
- [4] NGUYEN M V, HAN J W, LE D, et al. Clerodane diterpenoids

identified from *Polyalthia longifolia* showing antifungal activity against plant pathogens [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69: 10527.

- [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.
- [6] 李标,李清,唐坤,等.内生真菌在中药现代化中的作用[J].*中国中药杂志*,2016,41(1):14.
- [7] IANTAS J, SAVI D C, PONOMAREVA L V, et al. Antifungal chromanones produced by the endophytic fungus *Pseudofusicoccum stromaticum* CMRP4328 [J]. *Planta Med*, 2023, 89(12): 1178.
- [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 the brominated aromatic butenolides from the *Aspergillus terreus* EGF7-0-1 with their antifungal activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72: 19869.
- [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: 705.
- [11] 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 γ -芳环丁烯内酯类化合物研究(I)[J].*热带海洋学报*,2025,44(1):146.
- [12] NONG X H, WANG Y F, ZANG X Y, et al. Territrems and butyrolactone derivatives from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus* [J]. *Mar Drugs*, 2014, 12: 6113.
- [13] PARVATKAR R R, D' SOUZA C, TRIPATHI A, et al. Aspermolides A and B, butenolides from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70: 128.
- [14] HARITAKUN R, PACHTAWE P, CHANTHAKET R, et al. Butyrolactones from the fungus *Aspergillus terreus* BCC 4651 [J]. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58(11): 1545.
- [15] 王府润,张圣良,孔凡栋,等.曲霉属真菌 *Aspergillus clavatonianicus* HNMF114 的次生代谢产物及其抗菌活性研究[J].*天然产物研究与开发*,2021,33(6):971.
- [16] 王雅,陈育伍,刘博,等.长春花内生真菌 *Aspergillus* sp. CCH-1E 的活性次级代谢产物研究[J].*中国中药杂志*,2024,49(17):4687.
- [17] 孔维琦,金鑫,刘永宏,等.羊栖菜共附生真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD 02045 的次级代谢产物研究[J].*热带海洋学报*, 2025,44(1):154.
- [18] 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 Biodiver*, 2022, 19: e202200208.
- [19] FAN H, WANG L, ZANG Z K, et al. Bioactive asperteroids G-J from soft-coral associated symbiotic and epiphytic fungus *Aspergillus terreus* EGF7-0-1 [J]. *Bioengineering*, 2023, 10: 805.

[责任编辑 张宁宁]