

研究报告

金环胡蜂虫草来源短密青霉(*Penicillium brevicompactum*) VMFST24 次生代谢产物的分离鉴定及抗炎活性评价

赵巧, 崔贵志, 朱萧露, 蒋抒锦, 杨大松*, 杨银河*

大理大学 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南 大理 671000

赵巧, 崔贵志, 朱萧露, 蒋抒锦, 杨大松, 杨银河. 金环胡蜂虫草来源短密青霉(*Penicillium brevicompactum*) VMFST24 次生代谢产物的分离鉴定及抗炎活性评价[J]. 微生物学通报, 2025, 52(5): 2260-2275.

ZHAO Qiao, CUI Guizhi, ZHU Xiaolu, JIANG Shujin, YANG Dasong, YANG Yinhe. Isolation, identification, and anti-inflammatory activity evaluation of secondary metabolites of *Penicillium brevicompactum* VMFST24 from *Vespa mandarinia Cordyceps sensu lato*[J]. Microbiology China, 2025, 52(5): 2260-2275.

摘要: 【背景】昆虫是生物种类最多的类群, 是地球上尚未被充分开发与利用的巨大生物资源, 昆虫来源真菌能产生结构丰富的次生代谢产物, 是活性天然产物的重要来源。【目的】以金环胡蜂虫草来源短密青霉属(*Penicillium brevicompactum*) VMFST24 为研究对象, 分离鉴定其次级代谢产物并进行抗炎活性测试。【方法】首先以脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型对 *P. brevicompactum* VMFST24 的水萃取物、正丁醇萃取物、乙酸乙酯萃取物进行抗炎活性检测。再以活性为导向, 采用多种色谱技术对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取的中等极性部位进行分离纯化, 获得单体化合物进行抗炎活性测试; 最后采用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术对小极性部位的化学成分进行检测分析。【结果】通过抗炎活性检测发现 *P. brevicompactum* VMFST24 发酵产物的乙酸乙酯萃取物具有较好活性, 对其进行分离纯化, 共鉴定 5 个化合物: mycophenolic methyl ester (1)、 α -acetylcorcinol (2)、3-methoxy-6,8-dihydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarin (3)、3,5-二羟基苯甲酸甲酯(4)和苔色酸(5), 其中化合物 2 和 4 具有抗炎活性; 通过 GC-MS 技术对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物的小极性部位化学成分进行检测分析, 结果表明其富含大量的脂肪酸及其酯和酚类成分。

资助项目: 云南省基础研究项目(202101AT070031, 202201AT070007); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(202305AC160035, 202105AC160062)

This work was supported by the Fundamental Research Project of Yunnan Province (202101AT070031, 202201AT070007) and the Reserve Talents Project for Young and Middle-aged Academic and Technical Leaders of Yunnan Province (202305AC160035, 202105AC160062).

*Corresponding authors. E-mail: YANG Yinhe, yyh8612@126.com; YANG Dasong, yangds@cpu.edu.cn

Received: 2024-12-12; Accepted: 2025-01-21; Published online: 2025-02-20

【结论】金环胡蜂虫草来源真菌 *Penicillium brevicompactum* 具有产生抗炎活性次生代谢产物的能力, 本研究为胡蜂虫草真菌活性天然药物的开发奠定了基础。

关键词: 金环胡蜂虫草; 短密青霉; 分离鉴定; 抗炎活性; 气相色谱-质谱

Isolation, identification, and anti-inflammatory activity evaluation of secondary metabolites of *Penicillium brevicompactum* VMFST24 from *Vespa mandarinia Cordyceps sensu lato*

ZHAO Qiao, CUI Guizhi, ZHU Xiaolu, JIANG Shujin, YANG Dasong*, YANG Yinhe*

Yunnan Provincial Key Laboratory of Entomological Biopharmaceutical Research and Development, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China

Abstract: [Background] Insects represent the group with the highest number of biological species and constitute a vast biological resource on earth that has yet to be fully explored and utilized. Fungi derived from insects can produce structurally diverse secondary metabolites and serve as a significant source of active natural products. **[Objective]** To isolate and identify the secondary metabolites of the fungus *Penicillium brevicompactum* VMFST24 derived from *Vespa mandarinia Cordyceps sensu lato* and evaluated their anti-inflammatory activities. **[Methods]** First, the RAW264.7 cell model of inflammation induced by lipopolysaccharide was employed to evaluate the anti-inflammatory activities of the water extract, *n*-butanol extract, and ethyl acetate extract of *P. brevicompactum* VMFST24. Subsequently, based on the results of the activity tests, the moderately polar fraction of the ethyl acetate extract was isolated and purified by multiple chromatographic techniques. The obtained monomeric compounds were then tested for their anti-inflammatory activities. Finally, GC-MS was utilized to detect and analyze the chemical components of the low polar fraction. **[Results]** The ethyl acetate extract of the fermentation product of *P. brevicompactum* VMFST24 exhibited a significant anti-inflammatory activity. Five compounds were identified from this extract, including mycophenolic methyl ester (1), α -acetylorsinol (2), 3-methoxy-6,8-dihydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarin (3), methyl 3,5-dihydroxybenzoate (4), and *o*-orsellinic acid (5). Among them, compounds 2 and 4 demonstrated anti-inflammatory activities. Additionally, GC-MS analysis of the low polar fraction of the ethyl acetate extract revealed high abundance of fatty acids, their esters, and phenols. **[Conclusion]** *P. brevicompactum*, a fungus associated with *Vespa mandarinia Cordyceps sensu lato*, has the capacity to produce anti-inflammatory secondary metabolites. This research establishes a foundation for the development of active natural drugs derived from *Cordyceps* fungi associated with *Vespa*.

Keywords: *Vespa mandarinia Cordyceps sensu lato*; *Penicillium brevicompactum*; isolation and identification; anti-inflammatory activity; GC-MS

天然产物因生物活性广泛、结构和作用机制独特,成为新药的主要来源^[1-2]。目前,对天然产物的研究较广泛,包括动物、植物、微生物等各个领域。昆虫是生物种类最多的类群,据估计,昆虫的种类更高达 550 万种,是地球上尚未被充分开发与利用的巨大生物资源,真菌的种类高达 220–380 万种,并且这 2 个群体广泛分布于多种环境中,已经共同生活了至少 4 亿年^[3]。虫草是由虫草菌寄生于鳞翅目等昆虫的蛹而形成的虫体与真菌子座的复合体^[4],虫草来源真菌能产生结构种类丰富的次生代谢产物并有多重药理活性,来源于冬虫夏草的真菌肿弯颈霉(*Tolypocladium inflatum*),具有调节免疫力、抗菌、抗衰老、抗肿瘤、抗氧化等活性,其化学成分与冬虫夏草相似^[5-6];蛹虫草中含有虫草素,研究发现,从野生蛹虫草中分离出的麦角菌科蛹虫草真菌 *Cordyceps militari* Cm-1,其虫草素的含量远高于蛹虫草的子实体^[7]。因此,推测虫草真菌与虫草的药用价值具有高度关联性,具有替代野生虫草的潜在药用价值。

金环胡蜂属于膜翅目胡蜂科,是胡蜂家族中体型最大且性情最凶猛的捕食性肉食昆虫^[8]。目前,全球已知的胡蜂种类共有 6 000 余种,其中云南地区的胡蜂就占据了 154 种,占中国已知的 200 多种胡蜂的 77%,具有丰富的胡蜂资源^[9]。金环胡蜂作为一种重要的资源昆虫,它不仅可食用,还具有药用价值,如其幼虫、成虫、蜂毒及蜂巢均可入药^[10]。居住在中国云南省的景颇族有用胡蜂泡酒作为治疗类风湿性关节炎的传统疗法^[11]。目前对金环胡蜂的研究主要集中于蜂毒成分^[12]、肠道微生物^[13]以及其虫体的化学成分^[14]、基因组和转录组学分析^[15]等方面。云南省具有种类丰富的胡蜂虫草资源,但针对金环胡蜂虫草及其相关真菌的研究尚不充分,为此,本课题组于 2021 年从云南省德宏傣族景颇族自治州盈江县采集获得金环胡蜂虫草样本,并从中分离出真菌 VMFST24,经鉴定为短密青霉(*Penicillium brevicompactum*),其真菌粗提物对耐

甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)及金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)均具有较强抑制作用,还具有显著的抗炎活性^[16]。目前,关于短密青霉的研究主要集中于其主要次级代谢产物霉酚酸的药理作用^[17],尤其是抗肿瘤活性及抗菌活性方面。*P. brevicompactum* 表现出强大的抗菌效果,能有效抑制包括金黄色葡萄球菌、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、热带念珠菌(*Candida tropicalis*)、镰刀菌(*Fusarium*)及酵母菌(*Saccharomyces*)在内的多种微生物,这种广泛的抗菌活性可能归因于它所产生的生物碱、酚类化合物和三萜类化合物^[18-19],但目前对其抗炎作用有关的研究相对较少。此外,从 *P. brevicompactum* 分离出化合物 brevicolid A、B^[20]和 cipralphelin^[21]。这些研究结果进一步证实了短密青霉具有挖掘生物活性物质的潜力。本研究对一株具有显著抗炎活性的短密青霉(*Penicillium brevicompactum*)开展了次级代谢产物的研究,基于活性追踪,分离获得化合物,结合波谱学方法对化合物进行结构解析,并利用 NO 测定试剂盒对化合物进行抗炎活性测定。

1 材料与方法

1.1 样品

金环胡蜂虫草样本采集于云南省德宏傣族景颇族自治州盈江县卡场镇(24.962 992°N, 97.854 93°E);菌株 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 分离自金环胡蜂虫草,保藏于大理大学昆虫生物医药研发重点实验室^[16]。RAW264.7 小鼠巨噬细胞,武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

真菌发酵培养基使用马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基,购自广东环凯微生物科技有限公司。细胞培养基使用 DMEM 高糖基础培养基,购自武汉普诺赛生命科技有限公司;DMEM 完全培养基:由青霉素-链霉素混合液、胎牛血清、DMEM 高糖基础培养基按

照 1:10:90 的比例进行配制。

乙醇和石油醚, 汕滇药业有限公司; 乙酸乙酯, 天津福晨化学试剂有限公司; 甲醇, TEDIA 公司; 地塞米松, 大连美仑生物技术有限公司; 薄层层析硅胶板和柱层析硅胶粉, 青岛海洋化工有限公司; 3-(4,5-二甲基-2-噻唑基)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide, MTT)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)和青霉素-链霉素混合液, 北京索莱宝科技有限公司; 胎牛血清, Gibco 公司; 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS), Sigma 公司; NO 测定试剂盒, 上海碧云天生物科技有限公司。

超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; 振荡培养箱, 上海旻泉仪器有限公司; 压力蒸汽灭菌器, 上海博迅医疗生物仪器股份有限公司; 电子分析天平, 杭州万特衡器有限公司; CO₂ 培养箱, 力康生物医疗科技控股有限公司; 光吸收酶标仪, 上海闪谱生物科技有限公司; 气相色谱-质谱联用仪, Agilent Technologies 公司; 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; 酶标仪, Molecular Devices 公司。

1.3 *P. brevicompactum* VMFST24 的发酵及萃取物的制备

将 *P. brevicompactum* VMFST24 真菌活化后接种在 PDA 培养基中, 总发酵量 20 L, 28 °C 发酵 14 d。采用乙酸乙酯:甲醇:冰醋酸=80:15:5 的有机溶剂浸泡培养基和菌体, 通过减压浓缩提取液获得粗提物浸膏。浸膏中加入 600 mL 超纯水, 用频率为 40 kHz 的超声波处理 30 min, 使其形成混悬液后分别用乙酸乙酯、正丁醇和水进行 5 次萃取, 将各溶剂萃取液分别浓缩, 并标记为 VMFST24 乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和水萃取物。最后对各溶剂萃取物进行称重, 并将其保存在 4 °C 备用。

1.4 各萃取物的抗炎活性测试

采用 Griess 法^[22]对 *P. brevicompactum* VMFST24 的乙酸乙酯、正丁醇及水萃取物进行

抗炎活性测试。

1.4.1 RAW264.7 细胞培养

RAW264.7 细胞的培养采用 DMEM 完全培养基, 将该细胞接种于培养皿后, 置于培养箱中孵育 24 h (37 °C、5% CO₂), 然后使用倒置显微镜观察该细胞的生长状况, 当培养皿内细胞密度达到或超过 80%时, 进行细胞传代操作。在进行传代前, 将培养皿置于超净台内的无菌区域, 移除原有培养基, 并加入 2 mL PBS 溶液进行 2 次冲洗, 然后迅速加入 2 mL 完全培养基, 轻轻吹下贴壁细胞, 分别在另外 2 个含有 DMEM 完全培养基的新培养皿各加入 1 mL 细胞混悬液, 混匀后置于培养箱中培养。

1.4.2 细胞存活率测定

以 MTT 法确定 *P. brevicompactum* VMFST24 提取物对 RAW264.7 细胞无生长抑制作用的浓度。用倒置显微镜观察 RAW264.7 细胞的生长情况, 取生长状态良好, 培养 16–18 h 内细胞密度到达 80%–90%的对数生长期细胞用于实验, 将其制备成细胞悬液后接种到 96 孔板中。实验设置包括空白组、给药组和正常组, 在正常组和给药组中, 每孔加入 100 μL 的细胞悬液; 而空白组则只添加等量的培养基, 将 96 孔板放入细胞培养箱内培养 24 h 后, 给药组分别加入 100 μL 不同浓度的真菌萃取物, 正常组和空白组则加入等体积的培养基, 每个实验组均设置 3 个复孔, 并进行 3 次独立的平行实验以进行对照。细胞培养 24 h 后, 向每个孔中加入 20 μL 浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 并置于培养箱中继续培养 4 h。吸去孔板中的液体, 每个孔中均加入 150 μL DMSO 溶解形成的蓝紫色甲瓚结晶。通过振荡使溶液混合均匀后, 在 490 nm 波长下测量每个孔的光密度值(OD 值), 并根据测量结果计算细胞的存活率^[22]。

细胞存活率(%)=(OD_{实验}–OD_{空白})/(OD_{对照}–OD_{空白})×100。

1.4.3 抗炎活性测定

采用 Griess 法^[22]来测定细胞释放的 NO 含

量。具体操作步骤如下：将 RAW264.7 细胞以每孔密度为 1×10^5 个接种于 96 孔板中，并在细胞培养箱中培养 24 h；设定空白组、正常组、炎症模型组、给药组，其中空白组为等体积的培养基，正常组为 RAW264.7 细胞悬液，炎症模型组为含 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS 的 RAW264.7 细胞悬液，给药组为含不同浓度真菌萃取物及 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS 的细胞悬液，在培养箱中继续培养 24 h 后，取新的 96 孔板收集每个孔中的细胞上清液；严格按照 NO 测定试剂盒的使用说明进行操作，在 560 nm 波长下测定 OD 值，并通过与标准曲线对比计算出 NO 的表达水平。

1.5 真菌活性萃取物化学成分的分纯化

根据 *P. brevicompactum* VMFST24 萃取物的活性测试结果对相应萃取部分的化学成分进行分离、纯化。将各萃取物溶解于适宜溶剂后，结合薄层色谱层析(thin-layer chromatography, TLC)分析，选用正相硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析等色谱技术纯化获得单体化合物。*P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物(33 g)经正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=10:1-1:1, 氯仿:甲醇=10:1-1:1)依次进行梯度洗脱。根据薄层色谱特征合并为馏分 E1-E7。结合 TLC 显色特征，选择馏分 E4、E5 进一步分离。馏分 E4 (2.010 g)放置一段时间后，析出大量白色结晶，将白色结晶部分定为馏分 VMFST24 E4-1，经正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=10:1-1:1)得到馏分 E4-1-E4-4，其中 E4-2 为化合物 1 (25.0 mg)；馏分 E5 (10.300 g)经正相硅胶柱层析(石油醚:氯仿=30:1-1:1)得到馏分 E5-1-E5-5。将 E5-3 经正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=15:1-1:1)得到馏分 E5-3-1-E5-3-4，得到化合物 2 (10.0 mg)、化合物 3 (5.0 mg)、化合物 4 (6.0 mg)和化合物 5 (18.9 mg)。

1.6 化合物的结构鉴定

通过 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 核磁共振波谱技术结合微谱数据库，对化合物进行结构鉴定。

1.7 化合物的抗炎活性测试

采用 MTT 法和 Griess 法对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物分离鉴定出的单体化合物进行细胞存活率及抗炎活性测试，测试方法同“1.4”。主要区别在于用 MTT 法测定细胞存活率时给药组加入 100 μL 按一定浓度配制的样品溶液，起始浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ ，后续浓度根据细胞存活率进行调整。

1.8 脂溶性成分的气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)测定

称取 VMFST E1-E3 各 10 mg 于 10 mL 容量瓶中，加入适量乙酸乙酯溶解并定容至刻度，摇匀备用。色谱柱：Agilent 气相毛细管色谱柱 (19091S-433, 30 mm $\times$ 250 μm $\times$ 0.25 μm)。质谱条件：载气为高纯 He；载气流速 1.0 mL/min；进样量：5 μL (分流比为 10:1)；EI 离子源，离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$ ；四级杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$ ；电离能量 70 eV。程序升温步骤：(1) E1：初始温度为 100 $^{\circ}\text{C}$ ，以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 180 $^{\circ}\text{C}$ ，恒温保持 3 min，再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 240 $^{\circ}\text{C}$ ，恒温保持 5 min，最后以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 280 $^{\circ}\text{C}$ 。(2) E2 和 E3：初始温度为 100 $^{\circ}\text{C}$ ，以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 220 $^{\circ}\text{C}$ ，恒温保持 3 min，再以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 240 $^{\circ}\text{C}$ ，恒温保持 5 min，最后以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 280 $^{\circ}\text{C}$ ，恒温保持 5 min。

1.9 数据分析

实验数据的图形展示采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行绘制，使用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析，以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)形式统计结果，组间的数据比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，当 $P < 0.05$ 时，组间差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 *P. brevicompactum* VMFST24 代谢产物的提取及萃取

P. brevicompactum VMFST24 经固体发酵后, 提取浓缩, 再经萃取后获得次级代谢产物总重量为 153.5 g, 乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、水萃取物重量分别为 32.5、56.0、65.0 g。

2.2 不同萃取物抗炎活性

2.2.1 细胞存活率

采用MTT法检测*P. brevicompactum* VMFST24 水萃取物、正丁醇萃取物、乙酸乙酯萃取物对 RAW264.7 细胞活力的影响, 测试结果如图 1 所示。当样品浓度高于 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 时, 乙酸乙酯萃取物 RAW264.7 细胞存活率显著低于正常组; 样品浓度低于 5 $\mu\text{g/mL}$, 3 个溶剂萃取物给药组细胞存活率与正常组相比均无显著差异, 提示该浓度对 RAW264.7 细胞生长无抑制作用。因此, 后续采用 5 $\mu\text{g/mL}$ 以下的给药浓度开展实验。

2.2.2 RAW264.7 细胞 NO 产生率

本研究采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞构建炎症模型, 旨在从 *P. brevicompactum* VMFST24

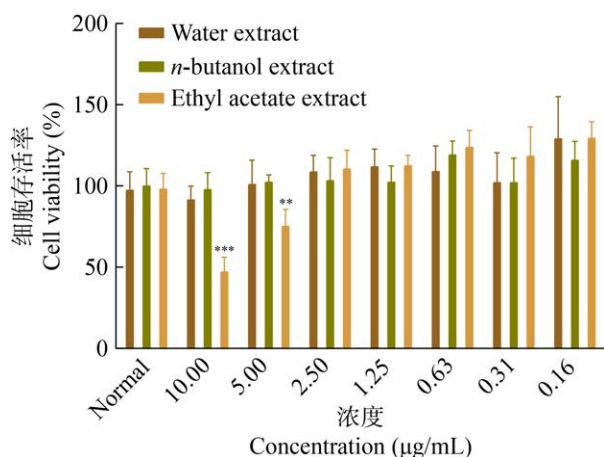


图 1 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 各萃取物的细胞存活率

Figure 1 Cell viability of various extract of *Penicillium brevicompactum* VMFST24. **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

的不同溶剂萃取物中筛选出具有抗炎活性的萃取部位。实验结果如图 2 所示, 相较于正常对照组, 模型组中的 NO 产生量显著增加, 并且差异具有统计学意义($P < 0.001$), 即 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型构建成功。乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物均表现出较强的抗炎效果, 能够显著降低炎症模型细胞中的 NO 含量。

2.3 乙酸乙酯萃取物化学成分的分纯化

采用多种柱色谱技术对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物进行分离纯化, 共鉴定获得 5 个已知化合物, 结构见图 3, 它们的物理形态、分子式和核磁数据如下所示:

化合物 1: 白色固体, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.66 (1H, s, OH), 5.19 (2H, s, H-13), 3.75 (3H, s, H-17), 3.61 (3H, s, H-18), 3.38 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-6), 2.41 (2H, d, $J=8.0$, 1.6 Hz, H-2), 2.31 (2H, t, $J=8.0$ Hz, H-3), 2.14 (3H, s, H-16), 1.79 (3H, s, H-15)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 174.01 (C-1), 173.10 (C-14),

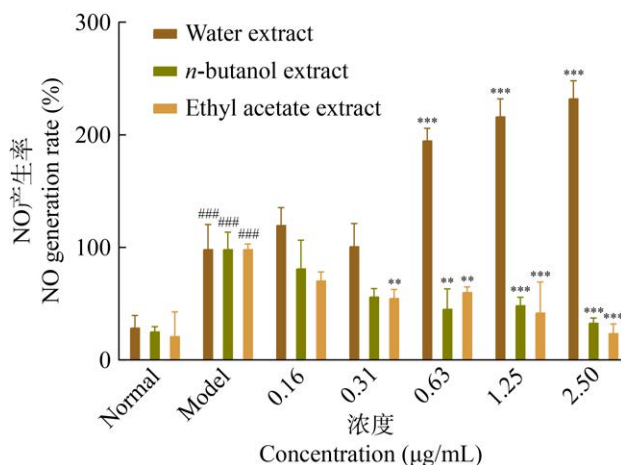


图 2 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 各萃取物对 RAW264.7 细胞 NO 产生的影响 $\bar{x} \pm \text{SD}$, $n=3$; 与正常组相比: ###: $P < 0.001$; 与模型组相比: **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$ 。

Figure 2 Effects of *P. brevicompactum* VMFST24 extracts on NO production in RAW264.7 cells. $\bar{x} \pm \text{SD}$, $n=3$; Compared with the normal group: ###: $P < 0.001$; Compared with the model group: **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

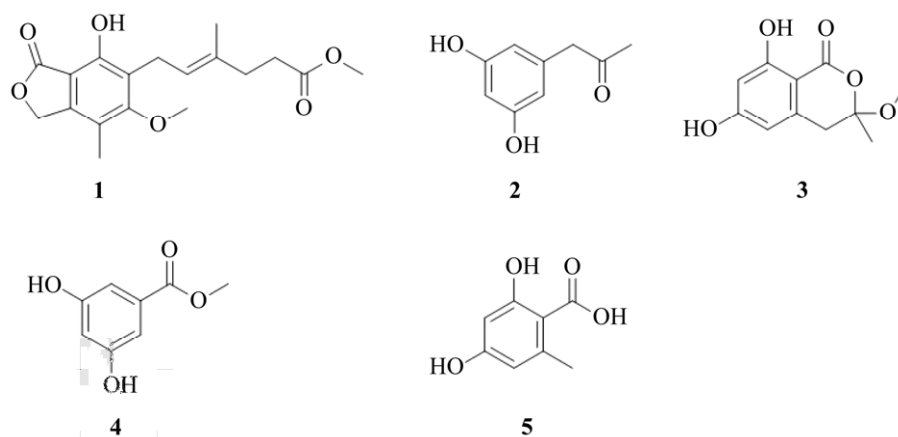


图3 化合物1-5的结构式

Figure 3 The structures of compounds 1-5.

163.78 (C-12), 153.72 (C-8), 144.16 (C-11), 134.28 (C-4), 122.86 (C-5), 122.24 (C-7), 116.90 (C-10), 106.46 (C-9), 70.23 (C-13), 61.15 (C-17), 51.65 (C-18), 34.74 (C-3), 32.99 (C-2), 22.72 (C-6), 16.26 (C-15), 11.73 (C-16)。

以上波谱数据与文献[23]报道一致,所以鉴定化合物 **1** 为 mycophenolic methyl ester。

化合物 **2**: 固体, 分子式 $C_9H_{10}O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, MeOD) δ : 6.16 (m, 3H, H-2, 4, 6), 3.53 (s, 2H, H-7), 2.10 (s, 3H, C-CH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ : 209.84 (C-8), 159.89 (C-3, C-5), 137.91 (C-1), 109.02 (C-6), 102.34 (C-4), 51.73 (C-7), 29.06 (C-9)。以上波谱数据与文献[24]报道一致,所以鉴定化合物 **2** 为 α -acetylorsinol。

化合物 **3**: 白色晶体, 分子式 $C_{11}H_{12}O_5$ 。 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ : 6.09 (1 H, s, H-6), 6.07 (1 H, d, $J=2.0$ Hz, H-4), 3.24 (3 H, s, OCH₃), 3.06 (1 H, d, $J=16.4$ Hz, H-7eq), 2.94 (1 H, d, $J=16.8$ Hz, H-7ax), 1.52 (3 H, s, CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ : 170.60 (C-2), 166.59 (C-3), 165.59 (C-5), 142.13 (C-6a), 108.77 (C-2a), 106.84 (C-4), 102.03 (C-8), 101.04 (C-6), 50.63 (OCH₃), 39.49 (C-7), 22.97 (CH₃)。以上波谱数据与文献[25]报道一致,所以鉴定化合物 **3** 为 3-methoxy-6,8-dihydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarin。

化合物 **4**: 白色固体, 分子式 $C_8H_8O_4$ 。 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ : 6.92 (2H, d, $J=4.0$ Hz, H-2, 6), 6.47 (1H, t, $J=4.0$ Hz, H-4), 3.85 (3H, s,

7-OCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ : 168.67 (C-7), 159.82 (C-3, 5), 148.31 (C-1), 108.74 (C-2, 6), 108.21 (C-4), 52.55 (7-OCH₃)。以上波谱数据与文献[26]报道一致,所以鉴定化合物 **4** 为 3,5-二羟基苯甲酸甲酯。

化合物 **5**: 白色粉末, 分子式 $C_8H_8O_4$ 。 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ : 6.35 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-5), 6.22 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-3), 2.38 (3H, s, Ph-CH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ : 175.11 (C), 163.74 (C-2), 162.83 (C-4), 143.18 (C-6), 111.41 (C-1), 107.39 (C-5), 105.27 (C-3), 24.70 (CH₃)。以上波谱数据与文献[27]报道一致,所以鉴定化合物 **5** 为 芥色酸。

2.4 单体化合物的抗炎活性测试

采用MTT法检测 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物分离鉴定出的 5 个化合物对 RAW264.7 细胞活力的影响, 实验结果如图 4 所示, 根据测试结果得出后续化合物给药浓度分别: 化合物 **1**: 1 μ mol/L, 化合物 **2**、化合物 **3**、化合物 **4**: 200 μ mol/L, 化合物 **5**: 1 600 μ mol/L。

通过 LPS 诱导 RAW264.7 细胞以建立炎症模型, 对分离得到的 5 个单体化合物进行抗炎活性测试。实验结果如图 5 所展示, 与正常对照组相比, 模型组中的 NO 含量显著升高, 差异具有统计学显著性 ($P < 0.0001$), 从而验证了 LPS 成功诱导了 RAW264.7 细胞的炎症反应。

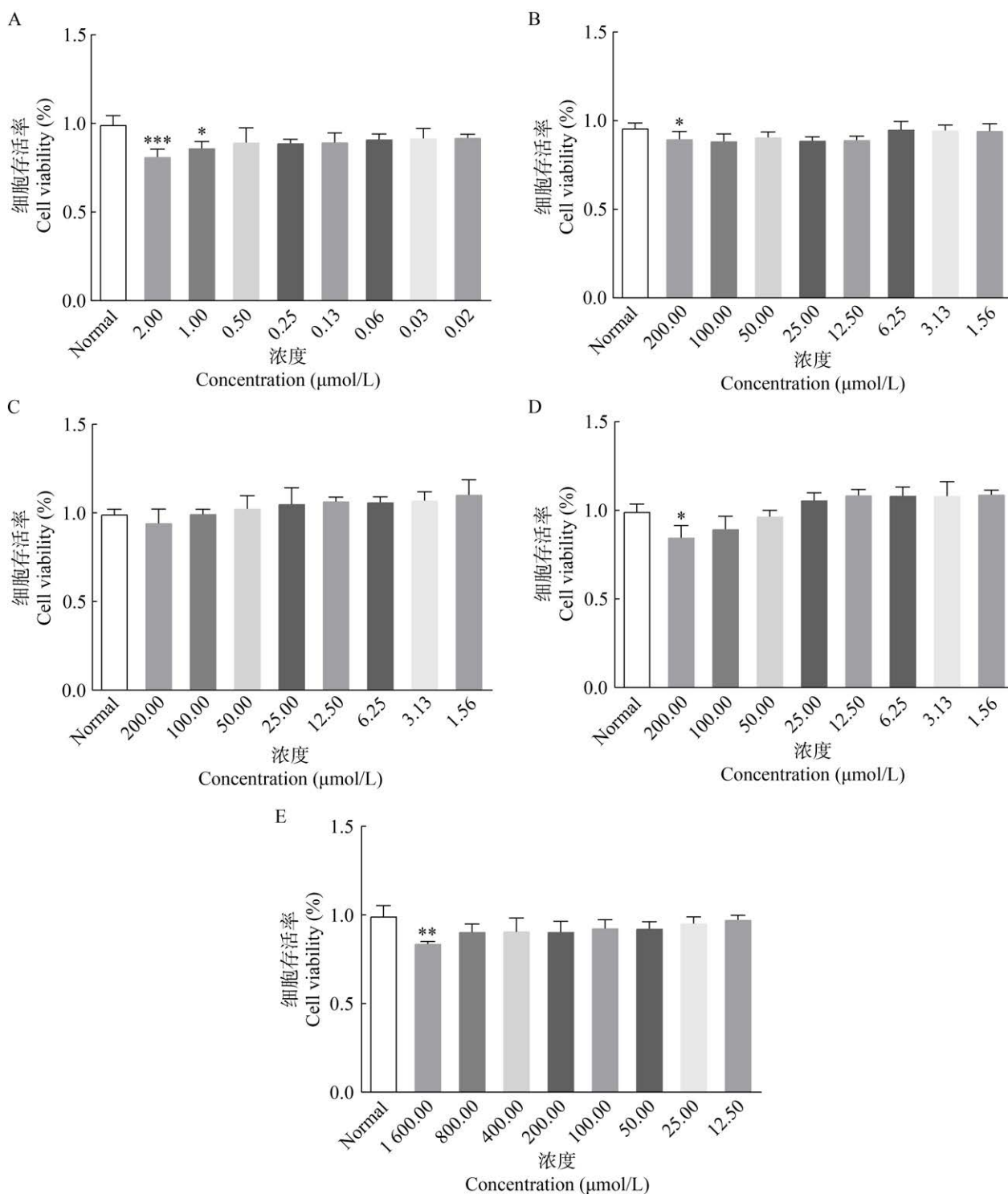


图4 单体化合物的细胞存活率 A-E: 化合物1-5。

Figure 4 Cell viability of monomeric compounds. A-E: Compound 1-5. $\bar{x} \pm SD$, $n=3$, compared with the normal group: *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

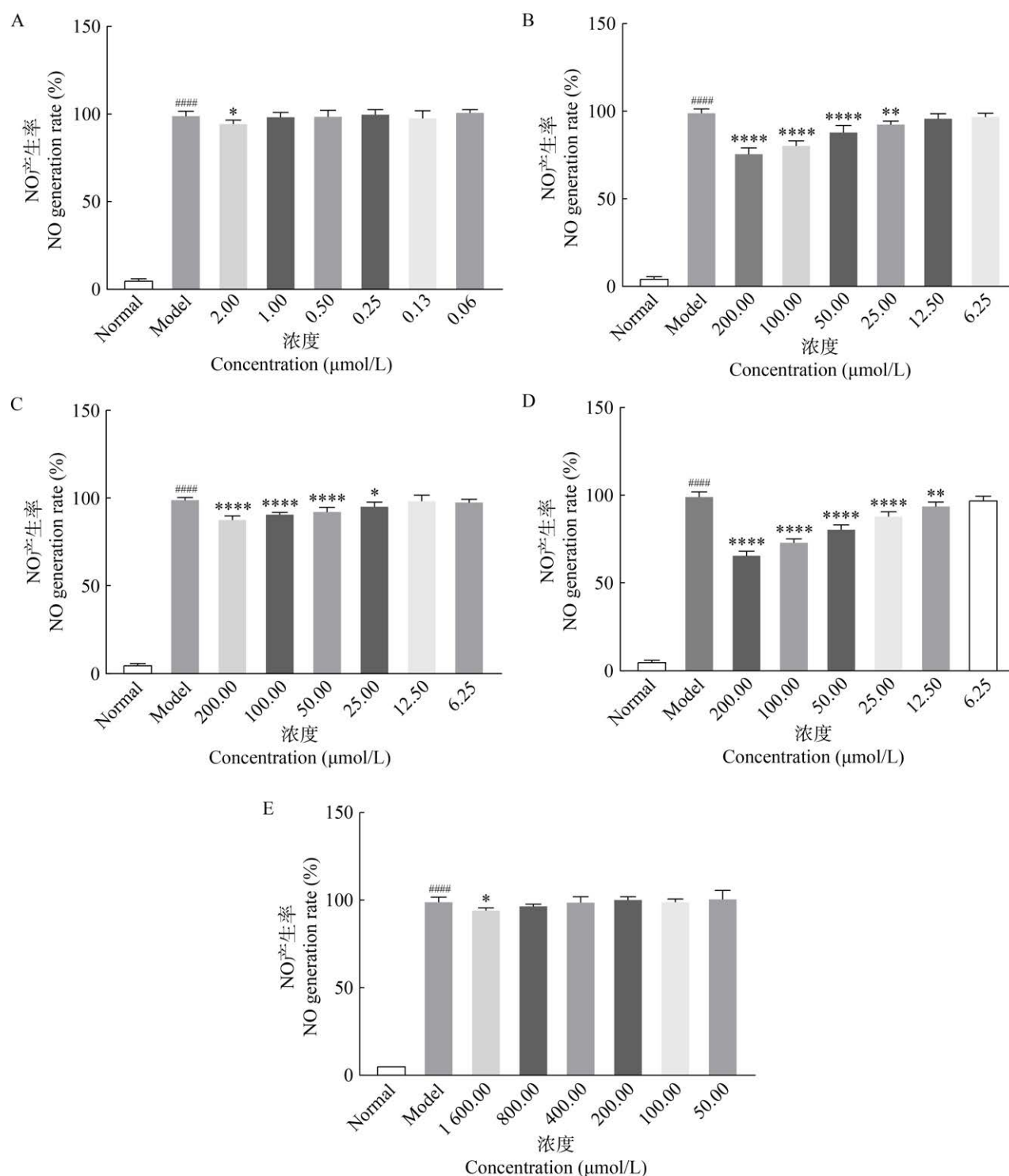


图 5 单体化合物对 RAW264.7 细胞 NO 产生的影响 A-E: 化合物 1-5。 $\bar{x} \pm SD$, $n=3$; 与正常组相比: ####: $P<0.0001$; 与模型组相比: *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ****: $P<0.0001$ 。

Figure 5 Effects of monomeric compounds on NO production in RAW264.7 cells. A-e: Compound 1-5. $\bar{x} \pm SD$, $n=3$; Compared with the normal group: ####: $P<0.0001$; Compared with the model group: *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ****: $P<0.0001$.

与模型组相比, 化合物 2、化合物 3、化合物 4 能够在不同程度上降低细胞炎症模型中 NO 的含量, 且呈剂量依赖性, 当浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 4 的抗炎活性最优, 其 NO 含量较模型组降低了 33.46%; 化合物 2 次之, 其 NO 含量较模型组降低了 23.48%; 化合物 3 较模型组 NO 含量降低了 11.50%。

2.5 脂溶性成分的 GC-MS 测定

P. brevicompactum VMFST24 乙酸乙酯萃取物中 E1、E2、E3 部位的 GC-MS 总离子流图如图 6 所示。采用 NIST11.L 标准库进行检索, 根据归一化法计算各成分的相对百分含量, 得到各萃取物的具体化学成分及其占比, 如图 7 所示。分析结果显示, E1 部分共鉴定出 13 种化合物, 占总峰面积的 100.00%, 其中, 酯类成分为主要成分, 占总峰面积的 94.29%, 而脂肪酸酯类是酯类成分的主要组成部分, 占总峰面积的 89.67%, 包括 68.62% 的不饱和脂肪酸酯、21.05% 的饱和脂肪酸酯及 4.62% 的其他酯类, 除此之外, E1 部分还含有少量的酚类、脂肪酸及吡啶类化合物; E2 部分共鉴定出 20 个化合物, 占总峰面积的 66.10%, 主要为脂肪酸及脂肪酸酯类成分。其中, 含饱和脂肪酸(酯) 6 个, 占总峰面积的 31.59%, 不饱和脂肪酸(酯) 4 个, 占总峰面积的 27.66%, 其余还有少量的吡唑、酮、酚、醇、酰胺及其他酯类成分; E3 部分共鉴定出 8 个化合物, 占总峰面积的 89.98%, 其主要成分为酚类成分, 占总峰面积的 79.94%, 酯类成分占总峰面积的 6.25%, 此外还包括少量的脂肪酸、醇及酰胺类化合物。

综上所述, *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物的小极性萃取物(E1、E2、E3)富含大量的脂肪酸(酯)和酚类成分。

真菌 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取 E1、E2、E3 这 3 个部位代表性成分的对比分析见表 1。从表 1 可看出, E1 和 E2 部位的主要成分均为脂肪酸及脂肪酸酯类, 其 2 个部位的主要差异在于所含脂肪酸(酯)的碳

链长度及其饱和度。相比之下, E3 部位富含 2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚), 其含量高达 78.71%。2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)为一种广泛使用的抗氧化剂^[28-29]。脂肪酸在人类的许多生理和病理状态中发挥着重要的作用, 主要参与构建细胞、能量代谢及激素合成等多种过程。此外, 脂肪酸的种类和摄入量与多种疾病的发生发展密切相关。9-硬脂酸棕榈酸酯 (palmitoleic acid ester of 9-hydroxy stearic acid, 9-POHSA) 和 9-硬脂酸油酸酯 (oleic acid ester of 9-hydroxy stearic acid, 9-OAHSA) 与多种循环心血管相关标志物具有相关性, 并且对 RAW264.7 细胞有抗炎作用^[30]; 羟基硬脂酸棕榈酸酯 (palmitic acid esters of hydroxy stearic acid, PAHSA), 具有抗炎和抗糖尿病作用^[31]; 亚油酸和亚油酸甲酯对小鼠的急性炎症有抑制作用, 其能改善代谢适应力、防止衰竭、增强记忆力, 并与促进钙信号传导、线粒体能量学和免疫反应相关^[32-33]; 脂肪酸还是生物膜的关键构成成分, 在能量代谢与储存过程中发挥着重要作用, 并且其作为信号分子也具有至关重要的功能^[34]; 脂肪酸代谢和水平的失衡影响中枢神经系统疾病的起始和进展, 如多发性硬化症、阿尔茨海默病、帕金森病等^[35]。不饱和脂肪酸对心房颤动、动脉粥样硬化、血栓形成、炎症、心源性猝死等心血管疾病, 抑郁、焦虑等精神疾病, 糖尿病, 癌症, 与年龄相关的认知功能下降, 牙周病和类风湿性关节炎等, 均具有治疗作用^[36-38]。反-9-十八烯酸, 又名反油酸, 与肝脏、肾脏的细胞凋亡, 心血管疾病及免疫炎症相关^[39-41]。

3 讨论

将 *P. brevicompactum* VMFST24 真菌活化后, 在 PDA 培养基中培养并发酵, 所得发酵产物使用乙酸乙酯: 甲醇: 冰醋酸=80:15:5 的配比溶剂提取后, 提取物用水混悬后分别用乙酸乙

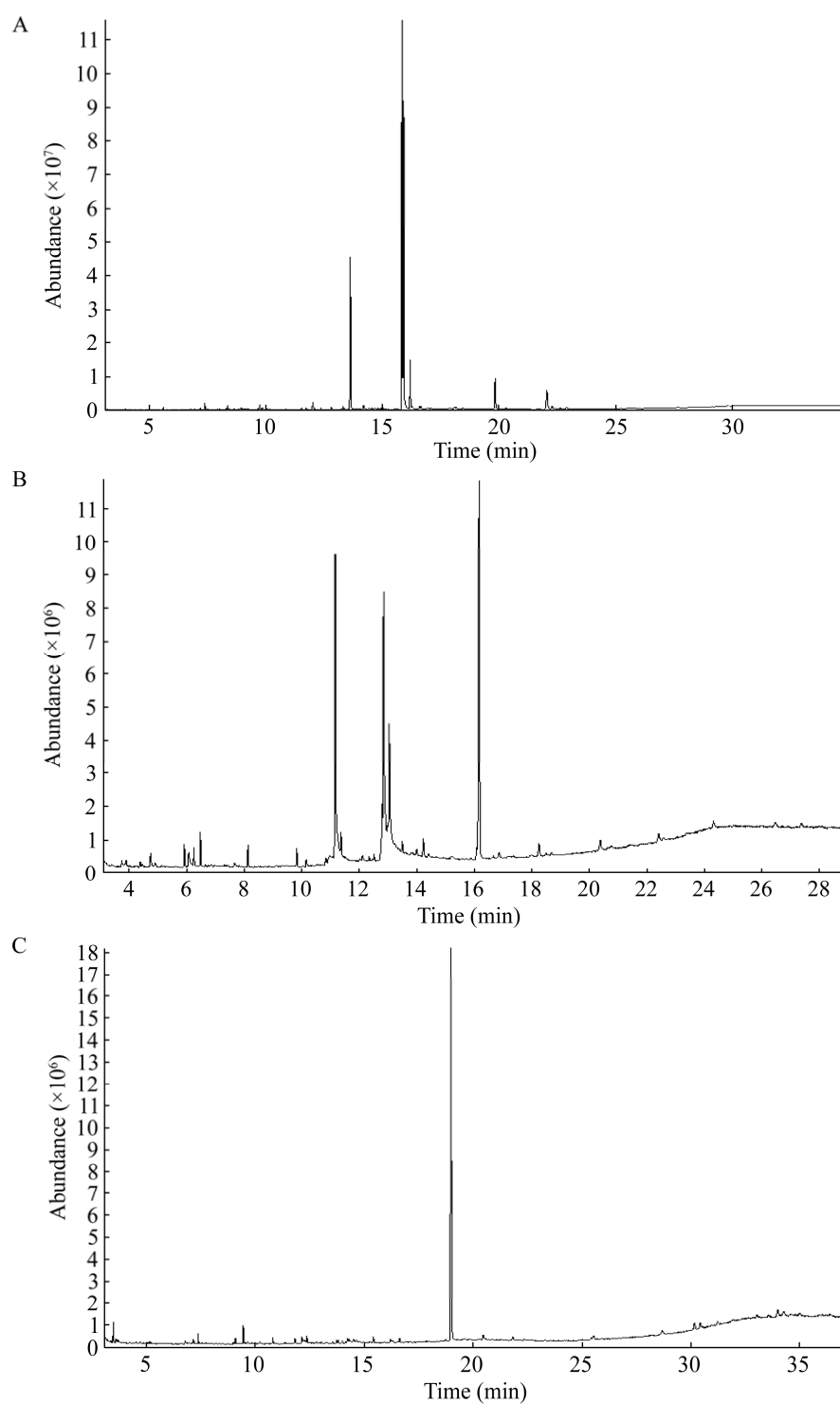


图 6 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取的 E1 (A)、E2 (B)、E3 (C) 部位成分的总离子色谱图

Figure 6 Total ion chromatograms of E1 (A), E2 (B) and E3 (C) fractions extracted by ethyl acetate from *Penicillium brevicompactum* VMFST24.

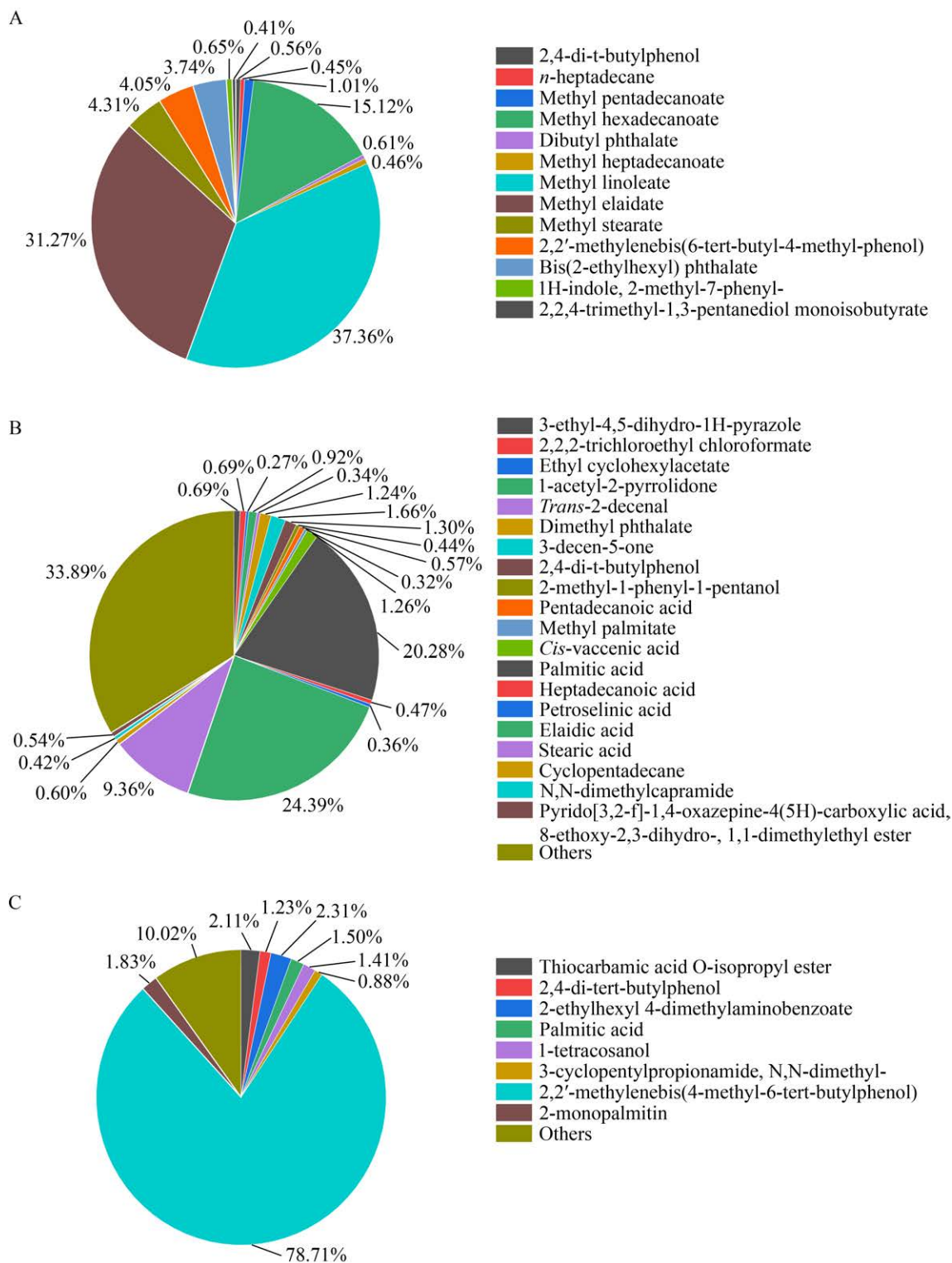


图7 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取的 E1 (A)、E2 (B)、E3 (C) 部位成分占比图
Figure 7 The proportion of E1 (A), E2 (B) and E3 (C) components extracted by ethyl acetate from *Penicillium brevicompactum* VMFST24.

表 1 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取的 E1、E2、E3 部位中代表性成分 GC-MS 对比分析结果

Table 1 GC-MS comparative analysis results of representative components in E1, E2 and E3 parts of ethyl acetate extraction of *Penicillium brevicompactum* VMFST24

序号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	E1		E2		E3	
			保留时间 Retention time (min)	百分含量 Percentage (%)	保留时间 Retention time (min)	百分含量 Percentage (%)	保留时间 Retention time (min)	百分含量 Percentage (%)
1	十五酸甲酯 Methyl pentadecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	12.02	1.01			—	—
2	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	13.63	15.12	10.83	0.32	—	—
3	亚油酸甲酯 Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	15.84	37.35	—	—	—	—
4	反-9-十八烯酸甲酯 Methyl elaidate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	15.91	31.26	—	—	—	—
5	硬脂酸甲酯 Methyl stearate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	16.20	4.31	—	—	—	—
6	2,2'-亚甲基双-(4-甲 基-6-叔丁基苯酚) 2,2'-Methylenebis (4-methyl-6-tert- butylphenol)	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	19.84	4.05	—	—	18.98	78.71
7	邻苯二甲酸二辛酯 Di- <i>n</i> -octyl phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	22.06	3.74	—	—	—	—
8	邻苯二甲酸二甲酯 Dimethyl phthalate	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	—	—	5.92	1.24	—	—
9	2,4-二叔丁基酚 2,4-di- <i>t</i> -butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	7.39	0.56	6.48	1.30	7.39	1.23
10	棕榈酸 Palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	—	—	12.14	1.50	12.14	1.50
11	反-9-十八烯酸 Elaidic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	—	—	12.84	24.39	—	—
12	硬脂酸 Stearic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	—	—	13.04	9.36	—	—
13	环十五烷 Cyclopentadecane	C ₁₅ H ₃₀	—	—	13.50	0.60	—	—
14	二十四醇 1-tetracosanol	C ₂₄ H ₅₀ O	—	—	—	—	15.43	1.41

—: 未检测到相关信息。

—: Not detected for the relevant information.

酯、正丁醇萃取获得 3 个萃取物。采用 Griess 法对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、水萃取物进行抗炎活性测试, 结果表明乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物

抗炎效果较好, 能够显著降低细胞炎症模型中 NO 的含量。通过活性追踪, 对 *P. brevicompactum* VMFST24 的乙酸乙酯活性部位化学成分进行分离纯化, 共鉴定 5 个化合物, 分别为 mycophenolic

methyl ester (1)、 α -acetylorscinol (2)、3-methoxy-6,8-dihydroxy-3-methyl-3,4-dihydroisocoumarin (3)、3,5-二羟基苯甲酸甲酯(4)和苔色酸(5)。其中, 化合物 1 霉酚酸甲酯(mycophenolic methyl ester)是霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)的衍生物, 据文献[42]报道 MPA 具有抗细菌、抗真菌、抗病毒、免疫抑制以及抗癌的潜能。霉酚酸甲酯对 HCT-116、BEL-7402、MGC-803、SH-SY5Y、HO-8910 和 HL-60 等多株肿瘤细胞具有显著的细胞毒活性^[43]。研究显示化合物 α -acetylorscinol (2)具有一定的抗炎活性, 与本研究得出的结果一致^[44]; 化合物 5 苔色酸具有抗氧化活性^[45]。采用 GC-MS 技术对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物的小极性 E1、E2、E3 这 3 个部位化学成分进行系统分析, 结果表明 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物的小极性部位富含大量的脂肪酸及其酯和酚类成分, 脂肪酸在人类的许多生理和病理生理状态中具有重要的潜在作用, 而鉴别出的酚类成分为常用的抗氧化剂。

4 结论

本研究主要对金环胡蜂虫草来源真菌 *Penicillium brevicompactum* VMFST24 的次生代谢产物进行研究。采用以 LPS 诱导 RAW264.7 细胞建立炎症模型对 *P. brevicompactum* VMFST24 发酵产物的水萃取物、正丁醇萃取物、乙酸乙酯萃取物进行抗炎活性测试; 采用薄层色谱、正相硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析等技术从 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物中等极性部位纯化获得 5 个化合物, 其中部分化合物具有抗炎活性; 采用 GC-MS 技术对 *P. brevicompactum* VMFST24 乙酸乙酯萃取物的小极性部位进行化学成分的系統分析。本研究不仅丰富了对 *Penicillium brevicompactum* 的代谢产物及生物活性的认识, 还为其后续活性天然药物的开发奠定了基础。

作者贡献声明

赵巧: 实施研究过程、采集整理数据、调研整理文献、设计论文框架、论文撰写; 崔贵志: 参与实验设计及数据采集; 朱萧露: 参与资料分析与解释; 蒋抒锦: 参与实验实施; 杨大松: 负责提出研究选题、设计研究方案、研究课题监管与指导; 杨银河: 获取研究经费、技术或材料支持、指导性支持、论文审阅与修订。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] EKIERT HM, SZOPA A. Biological activities of natural products III[J]. *Molecules*, 2023, 28(12): 4854.
- [2] ZHANG L, SONG JK, KONG LL, YUAN TY, LI W, ZHANG W, HOU BY, LU Y, DU GH. The strategies and techniques of drug discovery from natural products[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2020, 216: 107686.
- [3] BIEDERMANN PHW, VEGA FE. Ecology and evolution of insect-fungus mutualisms[J]. *Annual Review of Entomology*, 2020, 65: 431-455.
- [4] 刘柳, 李兵, 郭顺星, 王弘, 王志刚. 蛹虫草原基分化的差异蛋白质组学研究[J]. *菌物学报*, 2021, 40(11): 2926-2939.
LIU L, LI B, GUO SX, WANG H, WANG ZG. Differential proteomic analysis of *Cordyceps militaris* in association with primordium differentiation[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(11): 2926-2939 (in Chinese).
- [5] KRISHNA KV, ULHAS RS, MALAVIYA A. Bioactive compounds from *Cordyceps* and their therapeutic potential[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2024, 44(5): 753-773.
- [6] 张阵阵. 虫草真菌 *Tolypocladium inflatum* F56 的代谢产物、免疫调节作用及机制研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学博士学位论文, 2023.
ZHANG ZZ. Metabolites, immunomodulatory effects and mechanism of *Tolypocladium inflatum* F56, a fungus isolated from *Cordyceps sinensis*[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of Naval Medical University, 2023 (in Chinese).
- [7] 温鲁, 夏敏, 宋虎卫, 袁丞墅, 周昊, 蒋洁, 张乐. 蛹虫草的两株虫草素高产菌株[J]. *食用菌*, 2005, 27(1): 12-14.
WEN L, XIA M, SONG HW, YUAN CS, ZHOU H, JIANG J, ZHANG (L/Y). Two cordycepin-producing strains of *Cordyceps militaris*[J]. *Edible Fungi*, 2005, 27(1): 12-14 (in Chinese).
- [8] DONG SH, SUN AL, TAN K, NIEH JC. Identification of giant hornet *Vespa mandarinia* queen sex pheromone

- components[J]. *Current Biology*, 2022, 32(5): R211-R212.
- [9] 杨金燕, 杨琦. 金环胡蜂蜂毒蛋白提取工艺优化及其抗菌和抗氧化活性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(4): 48-56.
- YANG JY, YANG Q. Optimization of extraction technology of venom protein from *Vespa mandarinia* Smith. as well as its antibacterial and antioxidant activities[J]. *China Food Additives*, 2024, 35(4): 48-56 (in Chinese).
- [10] 王振吉, 杨申明, 段德珊, 徐文丽, 杨依柯. 金环胡蜂蜂房总黄酮提取工艺及抗氧化活性分析[J]. *中国蜂业*, 2023, 74(1): 64-68.
- WANG ZJ, YANG SM, DUAN DS, XU WL, YANG YK. Extraction technology and antioxidant activity analysis of total flavonoids from *Vespa mandarinia nidus*[J]. *Apiculture of China*, 2023, 74(1): 64-68 (in Chinese).
- [11] YIN PK, XIAO H, YANG ZB, YANG DS, YANG YH. Shotgun metagenomics reveals the gut microbial diversity and functions in *Vespa mandarinia* (Hymenoptera: Vespidae) at multiple life stages[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1288051.
- [12] ZHANG J, SUN RZ, CHEN ZW, ZHOU CY, MA CB, ZHOU M, CHEN XL, CHEN TB, SHAW C, WANG L. Evaluation of the antimicrobial properties of a natural peptide from *Vespa mandarinia* venom and its synthetic analogues as a possible route to defeat drug-resistant microbes[J]. *Biology*, 2022, 11(9): 1263.
- [13] SUENAMI S, KONISHI NOBU M, MIYAZAKI R. Community analysis of gut microbiota in hornets, the largest eusocial wasps, *Vespa mandarinia* and *V. simillima*[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 9830.
- [14] GHOSH S, NAMIN SM, MEYER-ROCHOW VB, JUNG C. Chemical composition and nutritional value of different species of *Vespa* hornets[J]. *Foods*, 2021, 10(2): 418.
- [15] PATNAIK BB, PARK SY, KANG SW, HWANG HJ, WANG TH, PARK EB, CHUNG JM, SONG DK, KIM C, KIM S, LEE JB, JEONG HC, PARK HS, HAN YS, LEE YS. Transcriptome profile of the Asian giant hornet (*Vespa mandarinia*) using illumina HiSeq 4000 sequencing: *de novo* assembly, functional annotation, and discovery of SSR markers[J]. *International Journal of Genomics*, 2016, 2016: 4169587.
- [16] 崔贵志, 王明明, 杨大松, 杨银河. 金环胡蜂虫草来源真菌的分离鉴定及其代谢产物的抗菌、抗炎活性评价[J]. *中国抗生素杂志*, 2024, 49(10): 1138-1148.
- CUI GZ, WANG MM, YANG DS, YANG YH. Isolation and identification of fungi from *Vespa mandarinia* Smith *Cordyceps* sensu lato and evaluation of the antibacterial and anti-inflammatory activity of their metabolites[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2024, 49(10): 1138-1148 (in Chinese).
- [17] TAMARIZ-ANGELES C, OLIVERA-GONZALES P, SANTILLÁN-TORRES M, BRICEÑO-LUNA V, SILVA-VILLAFANA A, VILLENA GK. Diverse biological activities and secondary metabolites profile of *Penicillium brevicompactum* HE19ct isolated from the high-Andean medicinal plant *Perezia coerulescens*[J]. *Fungal Biology*, 2023, 127(12): 1439-1450.
- [18] EL-HAWARY SS, SAYED AM, MOHAMMED R, HASSAN HM, ZAKI MA, RATEB ME, MOHAMMED TA, AMIN E, ABDELMOHSEN UR. Epigenetic modifiers induce bioactive phenolic metabolites in the marine-derived fungus *Penicillium brevicompactum*[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(8): 253.
- [19] GODINHO VM, GONÇALVES VN, SANTIAGO IF, FIGUEREDO HM, VITORELI GA, SCHAEFER CEGR, BARBOSA EC, OLIVEIRA JG, ALVES TMA, ZANI CL, JUNIOR PAS, MURTA SMF, ROMANHA AJ, KROON EG, CANTRELL CL, WEDGE DE, DUKE SO, ALI A, ROSA CA, ROSA LH. Diversity and bioprospection of fungal community present in oligotrophic soil of continental *Antarctica*[J]. *Extremophiles*, 2015, 19(3): 585-596.
- [20] 陈玲玲, 朱统汉, 朱国良, 刘云龙, 王聪, Pawinee Piyachaturawat, Arthit Chairoungdua, 朱伟明. 海洋来源真菌 *Penicillium brevicompactum* OUCMDZ-4920 的活性产物研究[J]. *有机化学*, 2017, 37(10): 2752-2762.
- CHEN LL, ZHU TH, ZHU GL, LIU YL, WANG C, PIYACHATURAWAT P, CHAIROUNGDU A, ZHU WM. Bioactive natural products from the marine-derived *Penicillium brevicompactum* OUCMDZ-4920[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2017, 37(10): 2752-2762 (in Chinese).
- [21] MATSUO H, MOKUDAI T, HIGO M, NONAKA K, NAGANO Y, NAGAHAMA T, NIWANO Y, TAKAHASHI Y, ŌMURA S, NAKASHIMA T. Cipralphelin, a new anti-oxidative *N*-cinnamoyl tripeptide produced by the deep sea-derived fungal strain *Penicillium brevicompactum* FKJ-0123[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2019, 72(10): 775-778.
- [22] 卢晨娜, 杨悦, 陈倩雯, 刘婷, 王智民, 冯伟红, 刘晓谦, 谢胡敏, 李春. 藏药甘青乌头化学成分研究[J]. *中草药*, 2024, 55(17): 5757-5769.
- LU CN, YANG Y, CHEN QW, LIU T, WANG ZM, FENG WH, LIU XQ, XIE HM, LI C. Chemical components of *Aconitum tanguticum*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2024, 55(17): 5757-5769 (in Chinese).
- [23] ROVIROSA J, DIAZ-MARRERO A, DARIAS J, PAINEMAL K, SAN MARTIN A. Secondary metabolites from marine *Penicillium brevicompactum*[J]. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 2006, 51(1): 775-778.
- [24] Leyte-Lugo M, Richomme P, Poupard P, Peña-Rodríguez LM. Identification and quantification of a phytotoxic metabolite from *Alternaria dauci*[J]. *Molecules*, 2020, 25(17): 4003.
- [25] LI XJ, GAO JM, CHEN H, ZHANG AL, TANG M. Toxins from a symbiotic fungus, *Leptographium qinlingensis* associated with *Dendroctonus armandi* and their *in vitro* toxicities to *Pinus armandi* seedlings[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2012, 134(2): 239-247.
- [26] 刘娟娟, 张靖柯, 李孟, 解双双, 魏俊俊, 朱登辉, 郑晓珂, 冯卫生. 月见草中生物碱类和酚酸类化合物的分离鉴定[J]. *中国药理学杂志*, 2023, 58(16): 1478-1483.
- LIU JJ, ZHANG JK, LI M, XIE SS, WEI JJ, ZHU DH, ZHENG XK, FENG WS. Alkaloids and phenolic acids compound isolated from the *Oenothera biennis* L.[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2023, 58(16): 1478-1483 (in Chinese).

- [27] 曾丽媚, 马燕燕, 马明珠, 张迪, 司鑫鑫. 表观遗传修饰剂诱导海洋来源 *Penicillium minioluteum* ZZ1657 次级代谢产物的研究[J]. 中国海洋药物, 2023, 42(2): 31-36.
- ZENG LM, MA YY, MA MZ, ZHANG D, SI XX. Studies on epigenetic-induced secondary metabolites from the marine-derived *Penicillium minioluteum* ZZ1657[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2023, 42(2): 31-36 (in Chinese).
- [28] CHAI YN, SHENG DL, JI XW, MENG YL, SHEN FH, HE R, MA RJ, WANG YY. Developmental and neurobehavioral toxicity of 2,2'-methylenebis(6-tert-butyl-4-methylphenol) (antioxidant AO2246) during the early life stage of zebrafish[J]. Science of the Total Environment, 2023, 899: 166306.
- [29] YANG XX, SUN ZD, WANG WY, ZHOU QF, SHI GQ, WEI FS, JIANG GB. Developmental toxicity of synthetic phenolic antioxidants to the early life stage of zebrafish[J]. Science of the Total Environment, 2018, 643: 559-568.
- [30] DONGORAN RA, LIN TJ, BYEKYET A, TANG SC, YANG JH, LIU CH. Determination of major endogenous FAHFs in healthy human circulation: the correlations with several circulating cardiovascular-related biomarkers and anti-inflammatory effects on RAW 264.7 cells[J]. Biomolecules, 2020, 10(12): 1689.
- [31] PATEL R, SANTORO A, HOFER P, TAN D, OBERER M, NELSON AT, KONDURI S, SIEGEL D, ZECHNER R, SAGHATELIAN A, KAHN BB. ATGL is a biosynthetic enzyme for fatty acid esters of hydroxy fatty acids[J]. Nature, 2022, 606(7916): 968-975.
- [32] 陆彩鹏, 赵敏, 喻凯, 张文明, 李泓烨. 亚油酸及亚油酸甲酯对巴豆油致小鼠耳肿胀的抑制作用[J]. 华西药学杂志, 2014, 29(5): 609-610.
- LU CP, ZHAO M, YU K, ZHANG WM, LI HY. Inhibitory effects of linoleic acid and methyl linoleate on ear swelling induced by croton oil in mice[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014, 29(5): 609-610 (in Chinese).
- [33] NAVA LAUSON CB, TIBERTI S, CORSETTO PA, CONTE F, TYAGI P, MACHWIRTH M, EBERT S, LOFFREDA A, SCHELLER L, SHETA D, MOKHTARI Z, PETERS T, RAMAN AT, GRECO F, RIZZO AM, BEILHACK A, SIGNORE G, TUMINO N, VACCA P, McDONNELL LA, RAIMONDI A, GREENBERG PD, HUPPA JB, CARDACI S, CARUANA I, RODIGHIERO S, NEZI L, MANZO T. Linoleic acid potentiates CD8⁺ T cell metabolic fitness and antitumor immunity[J]. Cell Metabolism, 2023, 35(4): 633-650.e9.
- [34] RÖHRIG F, SCHULZE A. The multifaceted roles of fatty acid synthesis in cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2016, 16(11): 732-749.
- [35] BOGIE JFJ, HAIDAR M, KOOIJ G, HENDRIKS JJA. Fatty acid metabolism in the progression and resolution of CNS disorders[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2020, 159: 198-213.
- [36] XIE D, CHEN Y, YU JW, YANG ZZ, WANG XS, WANG XG. Progress in enrichment of n-3 polyunsaturated fatty acid: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(32): 11310-11326.
- [37] SHAHIDI F, AMBIGAIPALAN P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2018, 9: 345-381.
- [38] LEUTOU AS, McCALL JR, YORK R, GOVINDAPUR RR, BOURDELAIS AJ. Anti-inflammatory activity of glycolipids and a polyunsaturated fatty acid methyl ester isolated from the marine dinoflagellate *Karenia mikimotoi*[J]. Marine Drugs, 2020, 18(3): 138.
- [39] SANADGOL N, MOSTAFAIE A, BAHRAMI G, MANSOURI K, GHANBARI F, BIDMESHKPOUR A. Elaidic acid sustains LPS and TNF- α induced ICAM-1 and VCAM-1 expression on human bone marrow endothelial cells (HBMEC)[J]. Clinical Biochemistry, 2010, 43(12): 968-972.
- [40] 余泽林. 反油酸通过抑制线粒体自噬诱导肾细胞坏死性凋亡的作用机制研究[D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2024.
- YU ZL. Elaidic acid induces necroptosis by inhibiting mitophagy in renal cells[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin University, 2024 (in Chinese).
- [41] 周钰美. 膳食反油酸基于铁死亡和 AMPK 信号通路对肝细胞脂质代谢的影响及机制研究[D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2024.
- ZHOU YM. Effects and mechanisms of dietary elaidic acid on lipid metabolism in hepatocytes via ferroptosis and AMPK signal pathway[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin University, 2024 (in Chinese).
- [42] SIEBERT A, PREJS M, CHOLEWINSKI G, DZIERZBICKA K. New analogues of mycophenolic acid[J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2017, 17(9): 734-745.
- [43] CHEN XH, ZHOU GL, SUN CX, ZHANG XM, ZHANG GJ, ZHU TJ, LI J, CHE Q, LI DH. Penicacids E-G, three new mycophenolic acid derivatives from the marine-derived fungus *Penicillium parvum* HDN17-478[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2020, 18(11): 850-854.
- [44] MAHANA A, HAMMODA HM, SAAD MMG, RADWAN MM, EISOHLY MA, GHAREEB DA, HARRAZ FM, SHAWKY E. Bio-guided isolation of potential anti-inflammatory constituents of some endophytes isolated from the leaves of ground cherry (*Physalis pruinosa* L.) via ex-vivo and in-silico studies[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2023, 23(1): 103.
- [45] LOPES TIB, COELHO RG, YOSHIDA NC, HONDA NK. Radical-scavenging activity of orsellinates[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2008, 56(11): 1551-1554.