

地涌金莲代谢组学分析及其二芳基庚烷类化合物 抗真菌活性比较

肖静娜^{1,2}, 唐 靛², 徐 曙², 李丕睿², 王茹媛², 赵万里², 陈 雨^{1,2,①}

[1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023;

2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园) 江苏省植物资源保护与利用重点实验室, 江苏 南京 210014]

摘要: 利用超高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS)代谢组学技术,对地涌金莲 [*Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li]等6种芭蕉亚科(subfam. Musoideae)植物种子代谢物进行非靶向分析,并进一步对地涌金莲不同成熟期种子及不同组织的代谢物进行靶向分析,还对7种化合物进行了体外抗真菌活性检测。结果显示:地涌金莲种子代谢物与芭蕉亚科另5种植物差异明显。地涌金莲与蕉麻(*Musa textilis* Née)之间的显著差异代谢物最少(279),与朝天蕉(*Musa velutina* H. Wendl. et Drude)之间的显著差异代谢物最多(429);地涌金莲与另5种植物的共有显著差异代谢物数量为63,识别鉴定出37个代谢物,其中,4个二芳基庚烷类化合物在地涌金莲种子中的相对含量显著高于另5种植物。靶向分析结果显示:在地涌金莲4个成熟期种子中共鉴定到12个二芳基庚烷类显著差异代谢物,且多数化合物在黑色或深褐色种子中的相对含量最高。对地涌金莲不同组织中的二芳基庚烷类化合物含量进行比较,结果显示这类化合物多集中在地下组织(假茎、假茎皮、根)。抗真菌活性实验结果显示:2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和链格孢菌(*Alternaria alternata*)的抑制率显著($P<0.05$)高于其他化合物。综合分析结果显示:地涌金莲富含二芳基庚烷类化合物,且多数二芳基庚烷类化合物为苯基非那烯酮类化合物,且具有较高的抗真菌活性。

关键词: 地涌金莲; 二芳基庚烷类; 苯基非那烯酮类; 代谢组学; 抗真菌活性

中图分类号: Q946.8; S432.4⁺4 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2025)04-0074-09

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2025.04.09

Metabolomics analysis of *Musella lasiocarpa* and comparison on antifungal activities of its diarylheptanoids compounds XIAO Jingna^{1,2}, TANG Liang², XU Shu², LI Pirui², WANG Ruyuan², ZHAO Wanli², CHEN Yu^{1,2,①} [1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Conservation and Utilization of Plant Resources, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2025, 34(4): 74-82

Abstract: Through using ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) metabolomics technology, non-targeted analysis was conducted for the metabolites in seeds of six subfam. Musoideae species such as *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li, and targeted analysis was further performed for the metabolites in seeds at different maturation stages and different tissues of *M. lasiocarpa*, *in vitro* antifungal activity was also conducted for seven compounds. The results show that the metabolites in *M. lasiocarpa* seeds are evidently different from those

收稿日期: 2024-10-30

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32070360)

作者简介: 肖静娜(1998—),女,湖南祁东人,硕士研究生,主要从事天然产物化学研究。

①通信作者 E-mail: ychen@jib.ac.cn

引用格式: 肖静娜, 唐 靛, 徐 曙, 等. 地涌金莲代谢组学分析及其二芳基庚烷类化合物抗真菌活性比较[J]. 植物资源与环境学报, 2025, 34(4): 74-82.

in the other five Musoideae species. The significantly differential metabolites between *M. lasiocarpa* and *Musa textilis* Née are the fewest (279), while those between *M. lasiocarpa* and *M. velutina* H. Wendl. et Drude are the most (429); the number of common significantly differential metabolites between *M. lasiocarpa* and the other five species is 63, with 37 metabolites identified, among which, the relative contents of four diarylheptanoids compounds in *M. lasiocarpa* seeds are significantly higher than those in the other five species. The targeted analysis result shows that 12 significantly differential diarylheptanoids metabolites are identified in seeds of *M. lasiocarpa* at four maturation stages, and the relative contents of most compounds are the highest in black or dark brown seeds. The contents of diarylheptanoids compounds in different tissues of *M. lasiocarpa* were compared, and the result shows that these compounds are mostly concentrated in the underground tissues (pseudostems, pseudostem barks, and roots). The antifungal activity assay result shows that the inhibition rate of 2-methoxy-9-phenyl-1*H*-phenalen-1-one against *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Alternaria alternata* is significantly ($P < 0.05$) higher than that of the other compounds. The comprehensive analysis result indicates that *M. lasiocarpa* is rich in diarylheptanoids, and most of them are phenylphenalenones with relatively high antifungal activity.

Key words: *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li; diarylheptanoids; phenylphenalenones; metabolomics; antifungal activity

芭蕉亚科 (subfam. Musoideae) 植物在热带和亚热带地区的生态系统以及人类生活中占据重要地位, 其下属的芭蕉属 (*Musa* Linn.)、象腿蕉属 (*Ensete* Horan.) 和地涌金莲属 [*Musella* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li] 广泛分布于亚洲及非洲热带地区^[1-2]。地涌金莲 [*Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li] 为地涌金莲属的惟一种, 主要分布在云南和四川等省份, 是多年生大型丛生草本植物^[3]。地涌金莲以独特的金色莲座状花朵而闻名, 被誉为佛教圣花^[4], 具有较高的观赏价值和人文价值。地涌金莲的主要化学成分包括二芳基庚烷类、脂肪酸类、甾醇类等, 其中二芳基庚烷类的苯基非那烯酮 (phenylphenalenone, PhPN) 类化合物具有抗菌、抗肿瘤和杀虫等多种生物活性^[3], 且是香蕉 (*Musa* spp.) 中重要的植保素^[5]。传统中医药应用中, 地涌金莲的花有收敛止血的功效, 常用于治疗白带异常、功能失调性子宫出血以及大肠下血, 茎汁可用于解酒以及解乌草毒^[6]。

目前, 国内外对地涌金莲的研究主要集中在种群遗传多样性^[7-8]、组培快繁技术^[9-12]、园艺观赏价值开发^[13]以及引种栽培技术^[14]等方面, 对地涌金莲化学成分的研究较少^[15-16], 因此, 地涌金莲的化学成分及其代谢途径尚未得到全面深入的解析。为挖掘地涌金莲等香蕉近缘植物抗病资源, 笔者所在课题组和德国马普化学生态所等单位对地涌金莲进行了化学成分分析和关键成分生物合成研究, 从种子中分离鉴定出多个 PhPN 类化合物^[17], 组装了地涌金莲接近

T2T (telomere-to-telomere) 水平的基因组, 并首次从该植物中鉴定出 3 个 PhPN 合成途径中的 *O*-甲基转移酶^[18] 和 5 个二芳基庚酮 (PhPN 合成前体) 合成酶^[19]。代谢组学技术是系统生物学领域常用的技术, 可以对植物初生代谢物和次生代谢物进行系统分析^[20-21], 了解代谢物在植物中的分布和积累情况。鉴于此, 笔者采用超高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱联用 (UPLC-Q-TOF-MS) 代谢组学技术, 首先分析了地涌金莲及芭蕉亚科另 5 种植物种子中的次生代谢物, 筛选出显著差异代谢物; 然后分析了显著差异代谢物在地涌金莲不同成熟期种子和不同组织中的分布情况; 最后测定了显著差异代谢物的体外抗真菌活性, 以期地为地涌金莲的化学成分研究奠定基础, 并为香蕉近缘植物的抗病资源挖掘提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

蕉麻 (*Musa textilis* Née)、小果野蕉 (*Musa acuminata* Colla)、朝天蕉 (*Musa velutina* H. Wendl. et Drude) 和紫苞芭蕉 (*Musa ornata* Roxb.) 的成熟种子由中国科学院西双版纳热带植物园提供。象腿蕉 [*Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman] 的成熟种子于 2022 年 8 月在云南省西双版纳傣族自治州勐海县广宰村采摘, 由江苏省中国科学院植物研究所田梅博士鉴定。地涌金莲植株于 2021 年 9 月种植在江苏省中

中国科学院植物研究所实验基地,于2022年5月,在地涌金莲种皮颜色变化的4个成熟期采摘种子,即浅黄色(S1)、黄色(S2)、浅褐色(S3)、黑色或深褐色(S4),每次采摘间隔1周。随机选取3株株高60 cm左右的健康地涌金莲植株,从上到下依次采集苞片内的花、浆果内的成熟种子、叶片、叶柄、茎(除去外部叶鞘)、假茎(距地面20 cm)、假茎皮和根。所有样品经液氮速冻并冷冻干燥后,使用BJ-150多功能粉碎机(德清拜杰电器有限公司)分别将花、叶片、叶柄、茎、假茎、假茎皮打成粉末,使用全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司)将根和种子打成粉末,室温避光保存于玻璃干燥皿中,用于代谢组学分析。每个样品设置3个生物学重复。

实验菌株尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、胶胞炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、链格孢菌(*Alternaria alternata*)为课题组保存菌株。

色谱级甲醇和色谱级甲酸产自美国TEDIA公司;分析级二甲基亚砜(DMSO)产自国药集团化学试剂有限公司;质量分数70%甲基托布津可湿性粉剂产自上海源叶生物科技有限公司;非那烯酮及二芳基庚烷类化合物2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one、2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-hydroxy-4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-hydroxy-9-phenyl-phenalen-1-one、2-hydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)-phenalen-1-one为实验室制备,纯度均大于95%。

1290 Infinity II UPLC-6546 Q-TOF MS液质联用仪和ZORBAX RRHD Eclipse Plus C₁₈色谱柱(2.1 mm×50 mm,1.8 μm)产于美国Agilent公司。

1.2 方法

1.2.1 样品制备 精密称取50 mg样品粉末,溶于1 mL含10 μg·mL⁻¹内标化合物非那烯酮的甲醇溶液中,室温下40 kHz超声提取45 min,静置30 min;取上清液,在室温下12 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液进行检测。

1.2.2 色谱条件 柱温30 ℃,流速0.3 mL·min⁻¹,流动相A为体积分数0.1%甲酸-水溶液,流动相B为甲醇。梯度洗脱程序:0~2 min,流动相B 15%;2~6 min,流动相B 15%~55%;6~12 min,流动相B

55%~70%;12~22 min,流动相B 70%~85%;22~28 min,流动相B 85%~100%;28~32 min,流动相B 100%;32~34 min,流动相B 15%。

1.2.3 质谱条件 离子源为电喷雾离子源,正离子模式,检测波长254 nm,质量扫描范围 m/z 100~1 700;气体流速10.0 mL·min⁻¹,离子源温度350 ℃;毛细管电压4 000 V,碎裂电压170 V,雾化器压力310.26 kPa,二级碰撞电压45 eV。

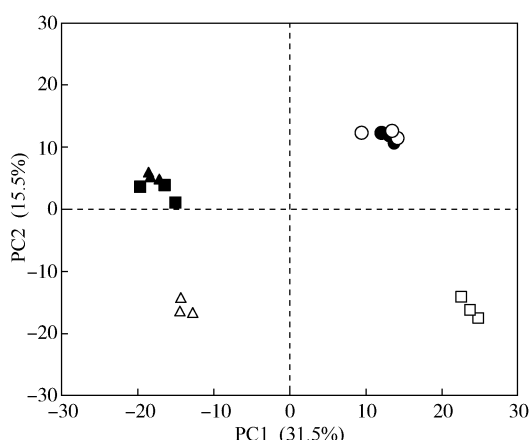
1.2.4 代谢组学分析 使用Agilent MassHunter Profinder 10.0软件批量递归提取化合物,处理液质数据的检测信号、保留时间偏差及校正对齐,获取化合物数据矩阵;并对化合物响应值进行归一化处理,消除样本、仪器等造成的响应差异。基于非公开数据库BioCyc metabolites & pan、黄酮类化合物数据库及自建芭蕉科(Musaceae)数据库,定性分析质谱数据,计算差异倍数(fold change, FC)和统计学显著性(P 值),筛选出 $\log_2|FC| \geq 2$ 、 $P < 0.05$ 且项目变量重要性(variable importance in projection, VIP)大于或等于1的显著差异代谢物。使用SIMCA 14.1和Origin 2024软件对6种芭蕉亚科植物种子中的次生代谢物进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)、火山图分析、层次聚类分析(hierarchical clustering analysis, HCA)。基于自建芭蕉科数据库和实验室制备的二芳基庚烷类化合物单体标准品的保留时间和相对分子量,靶向分析地涌金莲种子不同成熟期和不同组织中二芳基庚烷类化合物的相对含量,使用Origin 2024软件制作热图。

1.2.5 体外抗真菌活性测定 采用菌丝生长速率法^[22]对相关化合物进行抗真菌活性测定。将化合物溶于DMSO中,制成10 mg·mL⁻¹的母液,按体积比1:400将母液加入马铃薯蔗糖琼脂(PSA)培养基中,以DMSO为空白对照,以常用广谱杀菌剂甲基托布津为阳性对照。将3种测试菌的菌落(直径5 mm)接种到含有不同化合物的PSA平板上,每个处理3个平板,视为3个重复。25 ℃避光培养至空白对照组菌落长满整个平板,以十字交叉法测量菌落直径(减去菌碟直径5 mm)计算抑制率(z),计算公式为 $z = [(x-y)/x] \times 100\%$,式中, x 为空白对照组的平均菌丝直径, y 为化合物处理组的平均菌丝直径。

2 结果和分析

2.1 地涌金莲和芭蕉亚科另 5 种植物种子代谢物差异分析

2.1.1 代谢物主成分分析 结果(图 1)显示:第 1 和第 2 主成分的贡献率分别为 31.5% 和 15.5%, 每种植物的 3 个样本均聚在一起, 表明种间重复性较好; 地涌金莲与另 5 种植物样本明显分离, 表明地涌金莲种子代谢物与另 5 种植物差异明显。



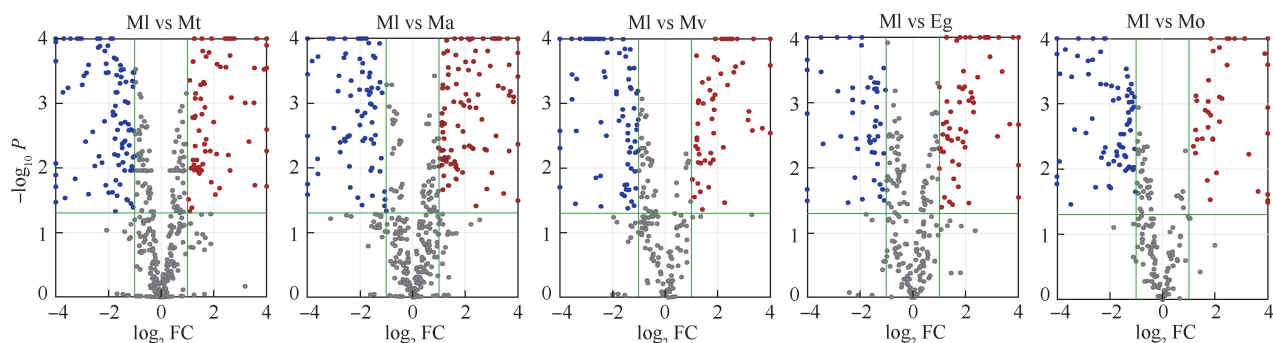
●: 蕉麻 *Musa textilis* Née; ○: 小果野蕉 *Musa acuminata* Colla; ▲: 朝天蕉 *Musa velutina* H. Wendl. et Drude; △: 象腿蕉 *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman; ■: 紫苞芭蕉 *Musa ornata* Roxb.; □: 地涌金莲 *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li. PC: 主成分 Principal component. 括号中百分数为贡献率 The percentages in parentheses are contribution rates.

图 1 芭蕉亚科 6 种植物种子代谢物的主成分分析
Fig. 1 Principal component analysis of metabolites in seeds of six subfam. Musoideae species

2.1.2 差异代谢物筛选 首先使用 OPLS-DA 模型对地涌金莲与芭蕉亚科另 5 种植物的代谢物进行对比。结果显示:地涌金莲与蕉麻的模型参数为 $R^2X=0.717$ 、 $R^2Y=1.000$ 、 $Q^2=0.987$, 地涌金莲与小果野蕉的模型参数为 $R^2X=0.717$ 、 $R^2Y=1.000$ 、 $Q^2=0.989$, 地涌金莲与朝天蕉的模型参数为 $R^2X=0.717$ 、 $R^2Y=1.000$ 、 $Q^2=0.991$, 地涌金莲与象腿蕉的模型参数为 $R^2X=0.762$ 、 $R^2Y=1.000$ 、 $Q^2=0.994$, 地涌金莲与紫苞芭蕉的模型参数为 $R^2X=0.838$ 、 $R^2Y=1.000$ 、 $Q^2=0.997$ 。地涌金莲与 5 种植物的模型 Q^2 值均超过 0.9, 表明这些模型均稳定且可靠。

通过 FC 值和 P 值进一步筛选差异代谢物, 结果(图 2)显示:地涌金莲与蕉麻之间的显著差异代谢物最少(279), 其中, 下调代谢物 153 个、上调代谢物 126 个; 地涌金莲与小果野蕉之间存在 291 个显著差异代谢物, 其中, 下调代谢物 139 个、上调代谢物 152 个; 地涌金莲与朝天蕉之间的显著差异代谢物最多(429), 其中, 下调代谢物 200 个、上调代谢物 229 个; 地涌金莲与象腿蕉之间存在 385 个显著差异代谢物, 其中, 下调代谢物 187 个、上调代谢物 198 个; 地涌金莲与紫苞芭蕉之间存在 357 个显著差异代谢物, 其中, 下调代谢物 205 个、上调代谢物 152 个。

2.1.3 共有显著差异代谢物分析 对地涌金莲与芭蕉亚科另 5 种植物的共有显著差异代谢物进行分析, 结果显示:地涌金莲与另 5 种植物的共有显著差异代谢物有 63 个(图 3-A)。由图 3-B 可见:共识别鉴定出 37 个共有显著差异代谢物, 其中, 二芳基庚烷类化合物有 6 个, 糖、糖苷及核苷类化合物有 9 个, 脂质类



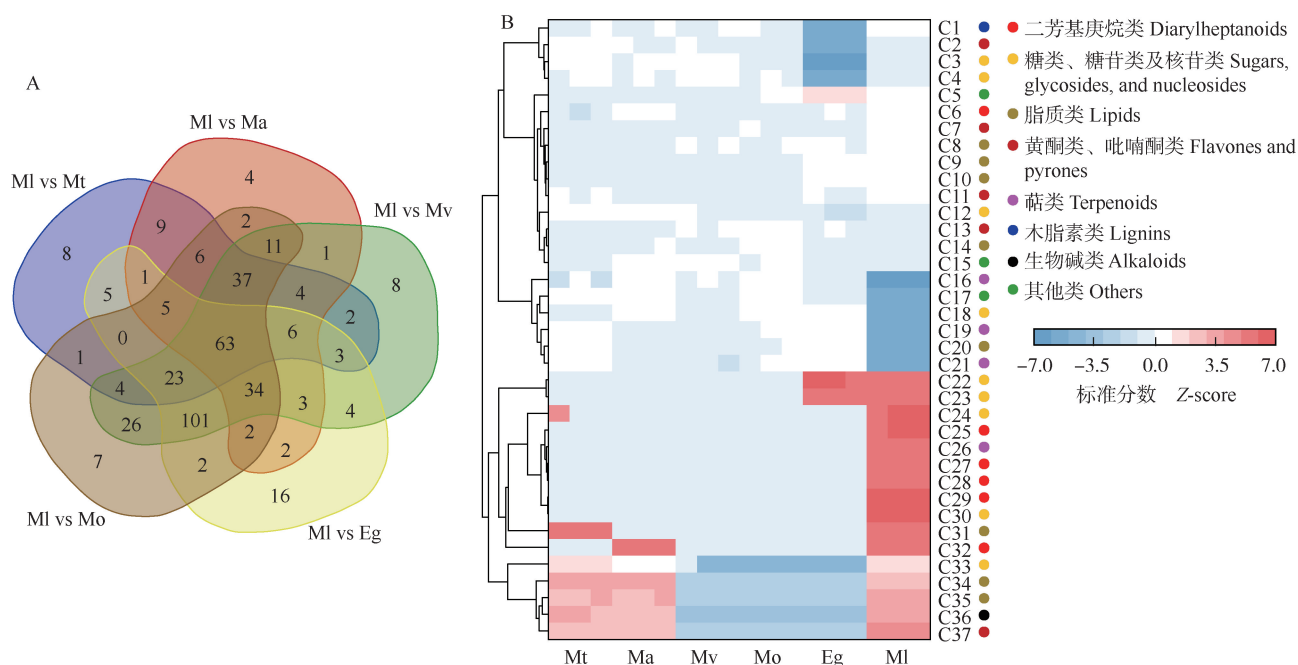
MI: 地涌金莲 *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li; Mt: 蕉麻 *Musa textilis* Née; Ma: 小果野蕉 *Musa acuminata* Colla; Mv: 朝天蕉 *Musa velutina* H. Wendl. et Drude; Eg: 象腿蕉 *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman; Mo: 紫苞芭蕉 *Musa ornata* Roxb.

图 2 地涌金莲与芭蕉亚科另 5 种植物种子间差异代谢物的火山图
Fig. 2 Volcano plots of differential metabolites in seeds between *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li and other five subfam. Musoideae species

化合物有 8 个,黄酮、吡喃酮类化合物有 5 个,萜类化合物有 4 个,木脂素类化合物和生物碱类化合物各有 1 个,其他类化合物有 3 个。protocatechuic acid 4-*O*-glucoside、musanolone F、gibberellin A15、*trans*-(1*S*,2*S*)-3-(4'-methoxyphenyl)-acenaphthene-1,2-diol、2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride、2-methoxy-9-phenyl-1*H*-phenalen-1-one、veratriloside C 在地涌金莲种子中的相对含量显著高于芭蕉亚科另 5 种植物,其中,musanolone F、*trans*-(1*S*,2*S*)-3-(4'-methoxyphenyl)-acenaphthene-1,2-diol、2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride、2-methoxy-9-phenyl-1*H*-phenalen-1-one 均为二芳基庚烷类化合物。

2.2 地涌金莲不同成熟期种子的二芳基庚烷类化合物含量变化

为探究二芳基庚烷类化合物含量在地涌金莲不同成熟期种子中的变化,对不同成熟期种子进行靶向代谢组学分析,结果(图 4)显示:共鉴定到 12 个二芳基庚烷类显著差异代谢物。在 S1 期(种皮为浅黄色)至 S3 期(种皮为浅褐色),种子中二芳基庚烷类化合物相对含量较低;在 S4 期(种皮为黑色或深褐色),musanolone F、*trans*-(1*S*,2*S*)-3-(4'-methoxyphenyl)-acenaphthene-1,2-diol、2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride、2-phenyl-1,8-naphthalic anhydride、2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one、2-(4'-hydroxyphenyl)-1,8-

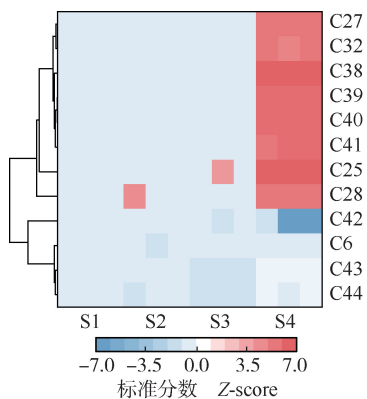


MI: 地涌金莲 *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li; Mt: 蕉麻 *Musa textilis* Née; Ma: 小果野蕉 *Musa acuminata* Colla; Mv: 朝天蕉 *Musa velutina* H. Wendl. et Drude; Eg: 象腿蕉 *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman; Mo: 紫苞芭蕉 *Musa ornata* Roxb.

C1: (1*S*,3*aR*,4*S*,6*aR*)-1,4-bis(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)tetrahydro-1*H*,3*H*-furo[3,4-*c*]furan; C2: salvigenin; C3: martynoside; C4: longifolioside B; C5: thiamine; C6: 1,7*a*,8*a*,15-tetrahydroxy-6,10-diphenyl-7*a*,8*a*,15*b*,15*c*-tetrahydro-7*H*,9*H*-diphenalen-[1,2-*b*:1,2-*d*]-furan-7,9-dione; C7: 25*R*-spirost-4-en-3,12-dione; C8: 14-hydroxy-5*E*,8*Z*,11*Z*,15*Z*-eicosatetraenoic acid; C9: 4-[(1*R*,5*E*)-4-oxo-5-[(2*E*,5*Z*)-undeca-2,5-dienylidene]cyclopent-2-en-1-yl]butanoic acid; C10: narbonolide; C11: allixin; C12: oleuropeinic acid; C13: norbraylin; C14: (2*E*,4*E*,6*E*,8*E*)-9-(2-acetyl-5,5-dimethylcyclopent-1-en-1-yl)-3,7-dimethylnona-2,4,6,8-tetraenoic acid; C15: tetrahydrobungeoal; C16: ϵ -carotene; C17: magnolignan G; C18: jadamycin A; C19: 6-angeloylfuranofukinol; C20: wyerone acid; C21: cyperaquinone; C22: 5-ribosylparomamine; C23: *S*-adenosylmethioninamine; C24: protocatechuic acid 4-*O*-glucoside; C25: musanolone F; C26: gibberellin A15; C27: *trans*-(1*S*,2*S*)-3-(4'-methoxyphenyl)-acenaphthene-1,2-diol; C28: 2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride; C29: 2-methoxy-9-phenyl-1*H*-phenalen-1-one; C30: veratriloside C; C31: trilinolein; C32: 2-phenyl-1,8-naphthalic anhydride; C33: toosendanoside; C34: digitoxigenin; C35: 11-oxo-5*E*,8*Z*,12*Z*,14*Z*-eicosatetraenoic acid; C36: cassinic acid; C37: quercetin.

图 3 地涌金莲与芭蕉亚科另 5 种植物共有显著差异代谢物的韦恩图 (A) 和热图 (B)
Fig. 3 Venn diagram (A) and heatmap (B) of common significantly differential metabolites of *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li and other five subfam. Musoideae species

naphthalic anhydride、2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one 相对含量显著升高。



S1,S2,S3,S4: 分别代表种皮颜色为浅黄色、黄色、浅褐色、黑色或深褐色的 4 个成熟期 Representing four maturation stages with seed coat colors of light yellow, yellow, light brown, black or dark brown, respectively. C6: 1,7a,8a,15-tetrahydro-6,10-diphenyl-7a,8a,15b,15c-tetrahydro-7H,9H-diphenalen-[1,2-b:1,2-d]-furan-7,9-dione; C25: musanolone F; C27: trans-(1S,2S)-3-(4'-methoxyphenyl)-acenaphthene-1,2-diol; C28: 2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride; C32: 2-phenyl-1,8-naphthalic anhydride; C38: 2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C39: 2-(4'-hydroxyphenyl)-1,8-naphthalic anhydride; C40: 2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C41: 2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C42: (4E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)hepta-4,6-dien-3-one; C43: (1S,2R,3S)-(-)-2,3-dihydro-1,2,3-trihydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)phenalene; C44: (+)-2,3-cis-4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-2,3-dihydro-2,3-dihydroxyphenalen-1-one.

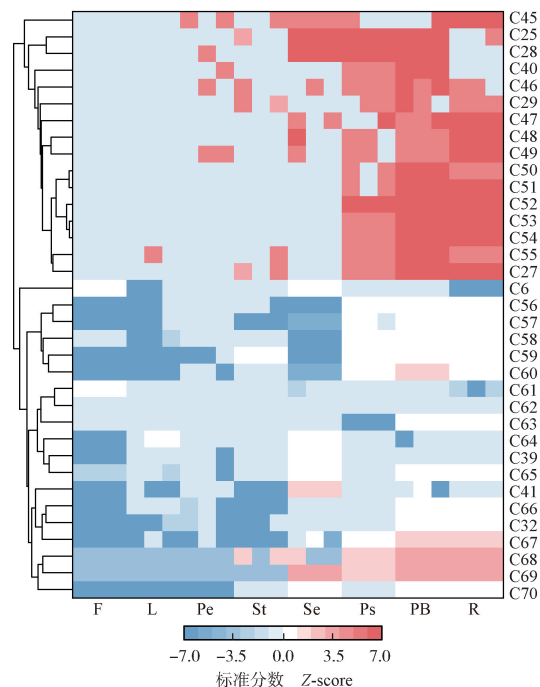
图 4 地涌金莲不同成熟期种子二芳基庚烷类化合物的相对含量
Fig. 4 Relative contents of diarylheptanoids compounds in *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li seeds at different maturation stages

2.3 地涌金莲不同组织中二芳基庚烷类化合物含量分析

为探究二芳基庚烷类化合物含量在地涌金莲不同组织中的差异,对地涌金莲 8 个组织进行了代谢组学分析,结果(图 5)表明:共鉴定到 35 个二芳基庚烷类显著差异代谢物。这些化合物的相对含量在地涌金莲地上组织(花、种子、叶片、叶柄、茎)与地下组织(假茎、假茎皮、根)间具有明显差异,并且大部分二芳基庚烷类化合物的相对含量在地下组织中较高。

2.4 部分二芳基庚烷类化合物的抗真菌活性分析

选择实验室前期制备的 7 种二芳基庚烷类化合物进行抗真菌实验。结果(表 1)显示:2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one 对尖孢镰刀菌、胶孢



F: 花 Flower; L: 叶 Leaf; Pe: 叶柄 Petiole; St: 茎 Stem; Se: 种子 Seed; Ps: 假茎 Pseudostem; PB: 假茎皮 Pseudostem bark; R: 根 Root. C6: 1,7a,8a,15-tetrahydro-6,10-diphenyl-7a,8a,15b,15c-tetrahydro-7H,9H-diphenalen-[1,2-b:1,2-d]-furan-7,9-dione; C25: musanolone F; C27: trans-(1S,2S)-3-(4'-methoxyphenyl)-acenaphthene-1,2-diol; C28: 2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride; C29: 2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one; C32: 2-phenyl-1,8-naphthalic anhydride; C39: 2-(4'-hydroxyphenyl)-1,8-naphthalic anhydride; C40: 2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C41: 2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C45: 2-hydroxy-4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C46: 9-(3',4'-dimethoxyphenyl)-2-methoxyphenalen-1-one; C47: 3-hydroxy-4-(4'-hydroxyphenyl)-1H,3H-benzo[de]isochromen-1-one; C48: (2S,3S)-(+)-2,3-dihydro-2,3-dihydroxy-4-(4'-hydroxyphenyl)phenalen-1-one; C49: 8-acetyloxy-7-methoxy-6-phenylphenalen-1-one; C50: 9-(4'-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C51: 2-hydroxy-4-phenyl-1H-phenalen-1-one; C52: 2-methoxy-1H-phenalen-1-one; C53: 1,7a,8a,15-tetrahydro-6,10-di-(4'-hydroxyphenyl)-7a,8a,15b,15c-tetrahydro-7H,9H-diphenalen[1,2-b:1,2-d]-furan-7,9-dione; C54: 2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C55: 2-hydroxy-9-(4'-methoxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C56: 2-(4'-hydroxy-3'-methoxy-phenyl)-naphthalene-1,8-dicarboxylic anhydride; C57: (2S,3S)-(+)-2,3-dihydro-2,3-dihydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)phenalen-1-one; C58: 2-hydroxy-9-phenyl-phenalen-1-one; C59: 2-methoxy-9-(4'-methoxyphenyl)phenalene-1-one; C60: trans-(1S,2S)-3-phenyl-acenaphthene-1,2-diol; C61: 3,3'-bis-hydroxyanigorufone; C62: (1S,2R,3S)-(-)-2,3-dihydro-1,2,3-trihydroxy-4-(4'-hydroxyphenyl)phenalene; C63: 2-hydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)-phenalen-1-one; C64: 2-methoxy-4-(4'-methoxyphenyl)phenalene-1-one; C65: 2-hydroxy-4-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one; C66: 2-(4'-methoxyphenyl)-1,8-naphthalic anhydride; C67: 9-(4'-hydroxyphenyl)-2-methoxyphenalen-1-one; C68: (-)-cis-2,3-dihydro-2,3-dihydroxy-9-phenylphenalen-1-one; C69: 7b,14b-dihydro-7a,14a-dihydroxy-6-(4'-hydroxyphenyl)-13-phenyl-(7H,14H)-diphenalen[2,3,3a,4-b,c,d:2,3,3a,4-g,h,i]pyrano[4,3-c]pyran-7,14-dione; C70: 7b,14b-dihydro-7a,14a-dihydroxy-6,13-di-(4'-hydroxyphenyl)-(7H,14H)-diphenalen[2,3,3a,4-b,c,d:2,3,3a,4g,h,i]pyrano[4,3-c]pyran-7,14-dione.

图 5 地涌金莲不同组织中二芳基庚烷类化合物的相对含量
Fig. 5 Relative contents of diarylheptanoids compounds in different tissues of *Musella lasiocarpa* (Franch.) C. Y. Wu ex H. W. Li

表1 部分二芳基庚烷类化合物的抗真菌活性¹⁾
Table 1 Antifungal activities of part of diarylheptanoids compounds¹⁾

化合物 Compound	抑制率/% Inhibition rate		
	尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	胶胞炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	链格孢菌 <i>Alternaria alternata</i>
2-methoxy-9-phenyl-1 <i>H</i> -phenalen-1-one	67.28±0.74a	59.68±2.82b	75.11±1.20a
2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1 <i>H</i> -phenalen-1-one	—	—	—
2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1 <i>H</i> -phenalen-1-one	56.25±1.33b	27.42±2.52cd	57.92±5.47b
2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1 <i>H</i> -phenalen-1-one	26.47±0.74d	—	30.77±2.07c
2-hydroxy-4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1 <i>H</i> -phenalen-1-one	39.71±1.33c	18.55±3.30d	30.77±3.42c
2-hydroxy-9-phenyl-phenalen-1-one	31.62±1.69cd	37.10±4.25c	50.68±3.87b
2-hydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)-phenalen-1-one	—	—	—
甲基托布津 Thiophanate-methyl	67.65±2.65a	100.00±0.00a	29.41±3.59c

¹⁾ —: 无抑制作用 No inhibition. 同列中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$).

炭疽菌和链格孢菌的抑制率显著 ($P < 0.05$) 高于其他化合物,对尖孢镰刀菌的抑制率 (67.28%) 与甲基托布津 (67.65%) 相当,对链格孢菌的抑制率 (75.11%) 显著高于甲基托布津。此外,2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one 和 2-hydroxy-9-phenyl-phenalen-1-one 对链格孢菌的抑制率 (分别为 57.92% 和 50.68%) 也显著高于甲基托布津。2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one 和 2-hydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)-phenalen-1-one 对 3 种真菌均无抑制作用,2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one 对胶胞炭疽菌也无抑制作用。

3 讨论和结论

文中采用 UPLC-Q-TOF-MS 代谢组学技术分析地涌金莲与芭蕉亚科另 5 种植物种子中的化学成分差异,识别鉴定出 37 个共有显著差异代谢物,在地涌金莲种子中有 7 个共有显著差异代谢物相对含量显著高于芭蕉亚科另 5 种植物种子,其中二芳基庚烷类化合物有 4 个,而这些二芳基庚烷类化合物中的 musanolone F 和 2-methoxy-9-phenyl-1*H*-phenalen-1-one 具有一种特别的结构——苯基非那烯酮结构。PhPN 类化合物是一类源自苯丙氨酸合成途径的多环二芳基庚烷 (diarylheptanoid, DAH) 类天然产物,主要存在于单子叶植物血草科 (Haemodoraceae)、芭蕉科 (Musaceae)、鹤望兰科 (Strelitziaceae) 和雨久花科 (Pontederiaceae) 植物中^[23]。PhPN 类化合物被认为是香蕉的植保素^[5],因香蕉为三倍体繁殖,易遭受病

虫害,植物体则会产生 PhPN 类化合物来抵御外界侵害^[24]。然而,PhPN 类化合物在香蕉体内含量过低,对高致病性的病原菌抗性较弱^[25]。本研究在地涌金莲种子中检测到 PhPN 类化合物,且其相对含量显著高于芭蕉亚科另 5 种植物种子,为后续开展香蕉抗病育种工作提供了极具潜力的研究对象,有望通过挖掘地涌金莲的相关基因或代谢途径,助力香蕉抗病育种取得新突破。

为深入了解二芳基庚烷类化合物在地涌金莲中的分布,采用靶向代谢组学方法进一步探究地涌金莲不同成熟期种子及不同组织中二芳基庚烷类化合物的相对含量,结果显示:在地涌金莲不同时期种子中共鉴定到 12 个二芳基庚烷类显著差异代谢物,其中, musanolone F、*trans*-(1*S*,2*S*)-3-(4'-methoxyphenyl)-naphthalic anhydride、2-phenyl-1,8-naphthalic anhydride、2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one、2-(4'-hydroxyphenyl)-1,8-naphthalic anhydride、2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one、2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1*H*-phenalen-1-one 的相对含量在地涌金莲种皮由浅黄色向浅褐色转变时期极低,在种皮为黑色或深褐色时期则显著升高,并且,这些二芳基庚烷类化合物除 2-[4'-(acetyloxy)phenyl]-naphthalic anhydride 外都是 PhPN 类化合物。Lyu 等^[17]研究发现,地涌金莲中的 PhPN 类化合物及线性二芳基庚烷类衍生物在种子发育早期 (种皮为浅黄色) 不存在,而在种子发育后期 (种皮为黑色或深褐色) 大量富集,该研究还展示了线性二芳基

庚烷类化合物转变为 PhPN 类化合物的具体过程,且 PhPN 类化合物大多为红色和橘红色,二芳基庚烷类衍生物都为白色,由此推断,地涌金莲种皮颜色可能与 PhPN 类化合物在种子不同成熟期的合成累积有关,并且,随着其含量增加,种皮颜色不断加深。此外,在地涌金莲不同部位中共鉴定出 35 个二芳基庚烷类显著差异代谢物,其中大多为 PhPN 类化合物,且多集中在地下组织中,推测这类化合物主要在地下组织中合成^[26-30]。

Luis 等^[31]首次从大蕉 (*Musa × paradisiaca* Linn.) 未成熟果实中分离得到 2 个 PhPN 类化合物,后续又从芭蕉属植物巴拿马病致病菌尖孢镰刀菌感染部位中分离得到一系列 PhPN 类化合物^[32]。张倩等^[33]对分离得到的 PhPN 类化合物进行 3 个金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 菌株的抑菌活性实验,发现 2,4-dihydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-phenalenone 对 3 种供试菌均具有显著的抑制活性。笔者所在课题组前期从地涌金莲种子和根中分离得到了 2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one、2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-hydroxy-4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one、2-hydroxy-4-(4'-methoxyphenyl)-phenalen-1-one, 均为 PhPN 类化合物^[15],因此,文中比较了这 7 种化合物对尖刀镰孢菌、胶胞炭疽菌和链格孢菌的抗菌活性,结果表明:2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one 对 3 种病菌的抑制率均高于其他化合物,对尖孢镰刀菌的抑制活性与甲基托布津相当,对链格孢菌具有显著的抑制作用;2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one 和 2-hydroxy-9-phenyl-phenalen-1-one 对链格孢菌均表现出优于甲基托布津的抗菌活性。以上结果表明 PhPN 类化合物在抗真菌中发挥了重要作用,这可能与该类化合物的结构有关:2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one 的抗真菌活性高于 2-hydroxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one 表明 2 位羟基甲基化能够增强抗真菌活性;在 C-2 位甲氧基存在时,2-methoxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one 的抗真菌活性高于 2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one,表明侧链苯基

上单羟基取代会减弱抗真菌活性,而 2-methoxy-9-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one 活性高于 2-methoxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one,表明侧链苯环上多羟基化可能通过其他途径(如氢键或靶点相互作用)重新提升活性;当 C-2 位为羟基时,2-hydroxy-9-(4'-hydroxyphenyl)-1H-phenalen-1-one 的活性高于 2-hydroxy-9-phenyl-1H-phenalen-1-one,表明苯环羟基化对抗真菌活性有正向贡献。由此认为,C-2 位甲氧基取代能增强 PhPN 类化合物的抗真菌活性,而苯环羟基化对抗真菌活性有着双重影响:1) 单羟基化可能降低活性(尤其在 C-2 位甲氧基存在时);2) 多羟基化(如邻二酚结构)可能通过分子间相互作用或氧化还原方式重新激活活性。

参考文献:

- [1] 王德新. 中国特有植物地涌金莲的保护生物学研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013: 12-17.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第十六卷第二分册[M]. 北京: 科学出版社, 1981: 3-6.
- [3] 唐 靓, 李丕睿, 冯博雅, 等. 中国特有植物地涌金莲的化学成分及应用价值研究进展[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(3): 15-22, 36.
- [4] 周翊兰, 龙春林. 民族传统文化滋养下的地涌金莲[J]. 科学, 2019, 71(2): 17-19.
- [5] FLORS C, NONELL S. Light and singlet oxygen in plant defense against pathogens: phototoxic phenalenone phytoalexins [J]. Accounts of Chemical Research, 2006, 39(5): 293-300.
- [6] 兰 茂. 滇南本草图说[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2007: 42.
- [7] 李文娟, 马 宏, 李正红, 等. 基于芭蕉属 EST 序列的地涌金莲 SSR 引物开发[J]. 林业科学研究, 2012, 25(2): 111-116.
- [8] 潘庆杰, 李正红, 王 雁, 等. 地涌金莲野生与栽培种群遗传多样性 RAPD 分析[J]. 林业科学研究, 2007, 20(5): 668-672.
- [9] 曾宋君, 吴坤林, 陈之林, 等. 珍稀药用和观赏植物地涌金莲的组织培养和快速繁殖[J]. 热带亚热带植物学报, 2007, 15(1): 55-62.
- [10] 刘秀贤, 潘庆杰, 李正红, 等. 地涌金莲的离体培养与快速繁殖技术研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(9): 4442-4444.
- [11] 王云波, 凌 青, 李玉香, 等. 地涌金莲组培快繁技术研究[J]. 现代农业科技, 2011(6): 211-213.
- [12] 尹桂芳, 孙 玲, 马继琼, 等. 外植体取材时期对地涌金莲组织培养褐化的影响[J]. 西南农业学报, 2015, 28(1): 349-352.
- [13] 柏 斌. 特色花卉地涌金莲缘何在鲜切花市场难寻其踪[J]. 花木盆景(花卉园艺), 2017(9): 56.
- [14] 李洪波, 罗慧君, 周建坤, 等. 地涌金莲引种及其栽培技术[J]. 广东园林, 2007, 29(增刊1): 51-52.

- [15] 唐 靛, 乔思薇, 张国栋, 等. 地涌金莲根乙醇提取物的化学成分[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(1): 108-110.
- [16] 王利勤, 王晓丽. 芭蕉科芭蕉属植物成分及其活性[J]. 广州化工, 2010, 38(7): 32-35.
- [17] LYU H, CHEN Y, GERSHENZON J, et al. Diarylheptanoid derivatives (musellins A-F) and dimeric phenylphenalenones from seed coats of *Musella lasiocarpa*, the Chinese dwarf banana [J]. *Journal of Natural Products*, 2023, 86: 1571-1583.
- [18] ZHAO W L, WU J Z, TIAN M, et al. Characterization of *O*-methyltransferases in the biosynthesis of phenylphenalenone phytoalexins based on the telomere-to-telomere gapless genome of *Musella lasiocarpa* [J]. *Horticulture Research*, 2024, 11: uhae042.
- [19] LYU H, ERNST L, NAKAMURA Y, et al. Phenylphenalenones and linear diarylheptanoid derivatives are biosynthesized via parallel routes in *Musella lasiocarpa*, the Chinese dwarf banana [J]. *Organic Letters*, 2024, 26(26): 5522-5527.
- [20] 白 璐, 许晓双, 张福生, 等. 基于 UPLC/Q-TOF MS 代谢组学技术研究远志不同品种间的化学差异性[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1819-1824.
- [21] 王梦迪, 雍旭红, 印 敏, 等. 代谢组学技术在植物次生代谢调控研究中的应用 [J]. 植物科学学报, 2023, 41(2): 269-278.
- [22] 王 静, 叶 敏, 范黎明, 等. 菌丝生长速率法筛选纤维素降解菌的研究[J]. 中国农学通报, 2013, 29(33): 323-326.
- [23] OPITZ S, HÖLSCHER D, OLDHAM N J, et al. Phenylphenalenone-related compounds: chemotaxonomic markers of the Haemodoraceae from *Xiphidium caeruleum* [J]. *Journal of Natural Products*, 2002, 65(8): 1122-1130.
- [24] HIDALGO W, DUQUE L, SAEZ J, et al. Structure-activity relationship in the interaction of substituted perinaphthenones with *Mycosphaerella fijiensis* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 7417-7421.
- [25] KRISHNAMURTHY P, RAVIKUMAR M J, PALANIVELU S A, et al. Phenylphenalenone-type phytoalexins in banana (*Musa species*): a comprehensive review for new research directions [J]. *Phytochemistry Reviews*, 2023, 22: 187-210.
- [26] NORMAN E O, LEVER J, BRKLJAČA R, et al. Distribution, biosynthesis, and biological activity of phenylphenalenone-type compounds derived from the family of plants, Haemodoraceae [J]. *Natural Product Reports*, 2019, 36(5): 753-768.
- [27] FANG J J, KAI M, SCHNEIDER B. Phytochemical profile of aerial parts and roots of *Wachendorfia thyrsiflora* L. studied by LC-DAD-SPE-NMR [J]. *Phytochemistry*, 2012, 81: 144-152.
- [28] FANG J J, HÖLSCHER D, SCHNEIDER B. Co-occurrence of phenylphenalenones and flavonoids in *Xiphidium caeruleum* Aubl. flowers [J]. *Phytochemistry*, 2012, 82: 143-148.
- [29] OTÁLVARO F, ECHEVERRI F, QUIÑONES W, et al. Correlation between phenylphenalenone phytoalexins and phytopathological properties in *Musa* and the role of a dihydrophenylphenalene triol [J]. *Molecules*, 2002, 7(3): 331-340.
- [30] 徐 锋, 韦秀娟, 杨冲冲, 等. 芭蕉化学成分和药理活性的研究进展 [J]. 中医学, 2021, 10(1): 14-27.
- [31] LUIS J G, ECHEVERRI F, QUINONES W, et al. Irenolone and emenolone: two new types of phytoalexin from *Musa paradisiaca* [J]. *Journal of Organic Chemistry*, 1993, 58: 4306-4308.
- [32] LUIS J G, QUIÑONES W, ECHEVERRI F, et al. Musanolones: four 9-phenylphenalenones from rhizomes of *Musa acuminata* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41: 753-757.
- [33] 张 倩, 康文艺. 芭蕉根活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2424-2427.

(责任编辑: 吴芯夷)

《植物资源与环境学报》关于使用 AI 工具辅助论文写作的声明

随着人工智能技术的发展, AI 工具在学术研究中的应用日益广泛。为抵制 AI 技术滥用, 维护学术出版规范, 现就本刊关于稿件内容使用 AI 工具问题作如下声明:

1) 本刊不接受任何 AI 工具生成或辅助创作的学术论文, 严禁作者未进行充分的原创性思考和验证, 直接使用 AI 工具生成论文的核心内容, 如研究背景、实验设计、分析结果、结论等。同时, 禁止审稿专家在未充分理解论文内容和进行专业判断的情况下, 直接采纳 AI 工具生成的审稿意见, 忽视其中可能存在的错误与偏见。

2) 违规处理办法。首次检测违规稿件将作退稿处理并记录备案; 已发表论文若事后发现 AI 工具生成内容, 将作撤稿处理; 情节严重者, 将列入作者学术失信名单, 2 年内禁止投稿; 如作者也是本刊审稿专家, 同时禁止其参与审稿工作。审稿专家在论文评审中违反上述规定, 造成稿件信息泄露或侵权等后果, 将禁止其参与后续审稿工作, 必要时追究相应责任。

本刊将持续加强技术检测手段, 以保护学术研究诚信, 维护科研成果的原创性和公信力。