

一株中华稻蝗内生真菌

Fusarium lateritium ZMT01 的代谢产物*

房豪东¹, 黄子辉¹, 李苏宁¹, 黎杨倩¹, 佘志刚², 熊亚红¹, 李春远¹

- 华南农业大学材料与能源学院 / 生物基材料与能源教育部重点实验室, 广东 广州 510642
- 中山大学化学学院, 广东 广州 510275

摘要: 研究一株中华稻蝗内生真菌 *Fusarium lateritium* ZMT01 的代谢产物, 采用大米培养基发酵真菌, 色谱技术分离纯化单体, 波谱分析鉴定结构, 共从发酵物中分离鉴定了 10 个化合物: fusopoltide A (1)、fusopoltide B (2)、fusopoltide D (3)、solaniol (4)、javanicin (5)、(1*S*, 4*S*, 10*S*)-3,4-dihydro-6,9-dihydroxy-8-methoxy-10-(2-oxopropyl)-1,4-methano-2-benzoxepin-5 (1*H*)-one (6)、2,2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol) (7)、2-hydroxymethyl-5-isopropoxy-4-methoxynaphthalen (8)、 β -sitosterol (9) 和 walterolactone A (10)。其中化合物 8、10 为首次从 *Fusarium* 属中得到, 除化合物 9 外, 其他化合物为首次从 *Fusarium lateritium* 中分离到。采用二倍稀释法测试抗菌活性, 结果显示化合物 4 和 5 对 O6 血清型大肠杆菌 *Escherichia coli* 有强抑制活性, MIC 为 6.25 μ g/mL, 化合物 4 对尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum* 显示中等抑菌活性, MIC 为 200 μ g/mL。

关键词: 内生真菌; 砖红镰刀菌; 代谢产物; 抗菌活性

中图分类号: O629 文献标志码: A 文章编号: 2097-0137 (2024) 01-0071-07

The metabolites of an endophytic fungus

Fusarium lateritium ZMT01 from *Oxya chinensis* Thunberg

FANG Haodong¹, HUANG Zihui¹, LI Suning¹, LI Yangqian¹, SHE Zhigang², XIONG Yahong¹, LI Chunyuan¹

- College of Materials and Energy, South China Agricultural University / Key Laboratory for Biobased Materials and Energy of Ministry of Education, Guangdong Guangzhou 510642, China
- School of Chemistry, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: The metabolites of an endophytic fungus *Fusarium lateritium* ZMT01 from *Oxya chinensis* Thunberg were investigated. The fungus was cultured in rice medium, the monomeric compounds were isolated and purified by the chromatographic technique, and the structures of compounds were identified by analysis of spectroscopy. Ten compounds were isolated and identified as fusopoltide A (1), fusopoltide B (2), fusopoltide D (3), solaniol (4), javanicin (5), (1*S*, 4*S*, 10*S*)-3,4-dihydro-6,9-dihydroxy-8-methoxy-10-(2-oxopropyl)-1,4-methano-2-benzoxepin-5 (1*H*)-one (6), 2,2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol) (7), 2-hydroxymethyl-5-isopropoxy-4-methoxynaphthalen (8), β -sitosterol (9) and walterolactone A (10). Among them, compounds 8 and 10 were firstly obtained

* 收稿日期: 2023-07-10

录用日期: 2023-09-01

网络首发日期: 2023-10-23

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金 (2019B1515210023, 2020A1515010325); 广东省自然科学基金 (2018A030313582)

作者简介: 房豪东 (1998 年生), 男; 研究方向: 生物与医药; E-mail: fhd1998@163.com

通信作者: 李春远 (1978 年生), 男; 研究方向: 天然产物化学; E-mail: chunyuanli@scau.edu.cn

熊亚红 (1976 年生), 女; 研究方向: 应用化学; E-mail: xiongyahong@scau.edu.cn

(李春远、熊亚红为共同通信作者)

from the genus *Fusarium*, and all of them except compound **9** were isolated from *Fusarium lateritium* for the first time. The antibacterial activities of these compounds were tested in vitro using the two-fold dilution method. Compounds **4** and **5** showed a high inhibitory activity against *Escherichia coli* with serotype O6 with MIC of 6.25 $\mu\text{g/mL}$, and compound **4** showed a moderate inhibitory activity against *Fusarium oxysporum* with MIC of 200 $\mu\text{g/mL}$.

Key words: endophytic fungi; *Fusarium lateritium*; metabolites; antibacterial activity

据估计,昆虫种类达3 000多万种,昆虫共生菌种类更为丰富。昆虫共生菌生长环境复杂多样,已从其代谢产物中发现大量结构新颖的化合物,其中约50%具有显著的抗肿瘤、抗菌、除草和抗氧化等生物活性(徐晓等,2018)。镰刀属 *Fusarium* sp. 真菌在自然界分布广泛,其次生代谢产物种类丰富且生物活性多样(Li et al., 2020)。据统计,截至2022年底,已在镰刀属真菌代谢产物中发现大约180多种抗菌活性物质(Xu et al., 2023)。镰刀属真菌是昆虫共生菌(含内生菌)的常见类型(郑林宇等,2022),但有关昆虫共生(含内生)镰刀菌代谢产物的研究很少,有研究曾从一株中华螽斯肠道

内生镰刀属真菌 *Fusarium proliferatum* ZS07 代谢产物中得到了1个具有抗枯草芽孢杆菌活性的新聚酮类化合物 *O*-methylated SMA93 和5个已知物(Li et al., 2014); 从一株中华稻蝗内生真菌砖红镰刀菌 *Fusarium lateritium* ZMT01 发酵物内得到3个具有抗菌活性的新倍半萜和2个已知类似物(Zhu et al., 2022)等。鉴于 *Fusarium lateritium* ZMT01 提取物在200 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下对O6血清型大肠杆菌 *Escherichia coli* O6 及尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum* 具有抗菌活性,本文继续研究其代谢产物,从中分离鉴定了10个化合物(图1),并测试了抗菌活性,期望发掘具有相应价值的先导化合物。

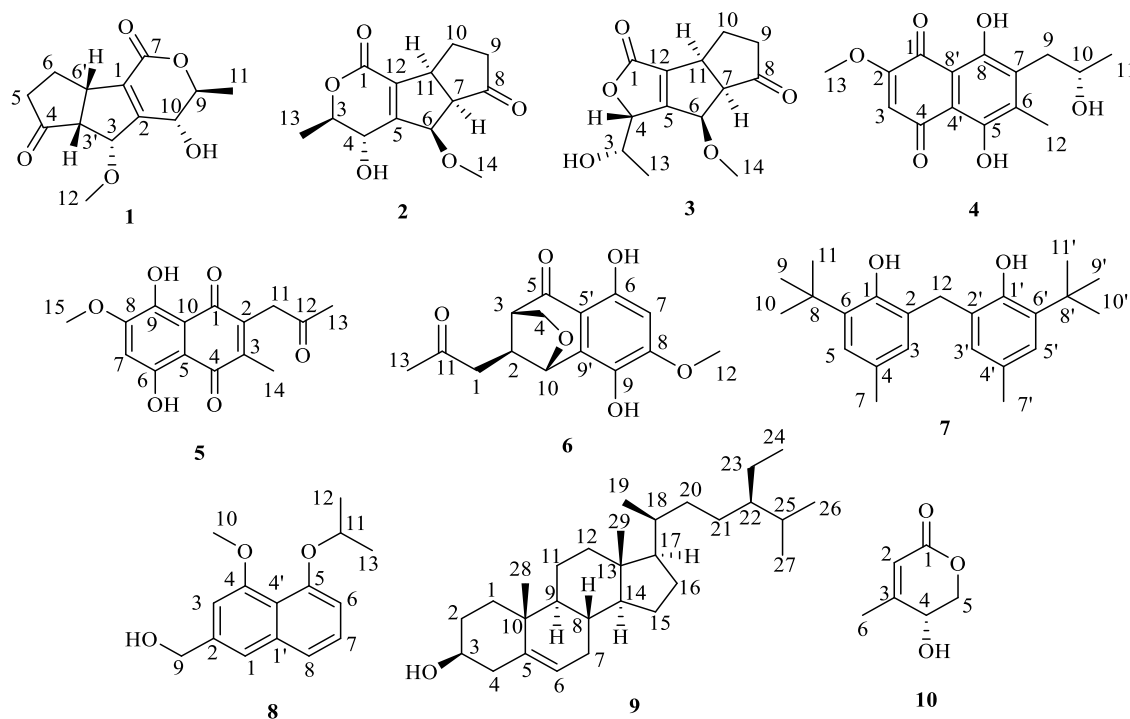


图1 化合物1~10的结构

Fig. 1 The structure of compounds 1-10

1 实验部分

1.1 仪器、试剂及材料

Bruker/AVVANCE NEO 600 超导核磁共振谱

仪、API3200 LC-MS、Horiba SEPA-300 旋光仪、G254 薄层硅胶和色谱纯甲醇、乙腈,其余试剂为分析纯。

Fusarium lateritium ZMT01 从中华稻蝗 *Oxya*

chinensis Thunberg 体内分离得到, 通过 PCR 技术扩增该真菌核糖体 ITS 基因区段 (GenBank 号 MT875260.1) 与 NCBI 数据库 MK646016.1 菌株对比 (相似度 99%) 鉴定。

O6 血清型大肠杆菌、O78 血清型大肠杆菌、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、禾谷镰孢菌 *Fusarium graminearum* 和尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum*, 引自华南农业大学材料与能源学院天然资源再生与利用研究室。

1.2 菌株发酵与提取分离

采用与陈晓晴等 (2020) 相同的大米培养基将菌株 *Fusarium lateritium* ZMT01 进行发酵培养, 用无水乙醇萃取发酵物, 再用乙酸乙酯萃取 3 次, 取上清液减压浓缩得到粗提物 (25.3 g)。使用微生物代谢产物常规的分离手段 (陈敏等, 2016), 依次分离纯化出化合物 **1** (139.2 mg)、**2** (72.6 mg)、**3** (41.8 mg)、**4** (6.5 mg)、**5** (6.2 mg)、**6** (33.3 mg)、**7** (1.1 mg)、**8** (1.7 mg)、**9** (0.9 mg) 和 **10** (35.1 mg)。详细分离流程见图 2。

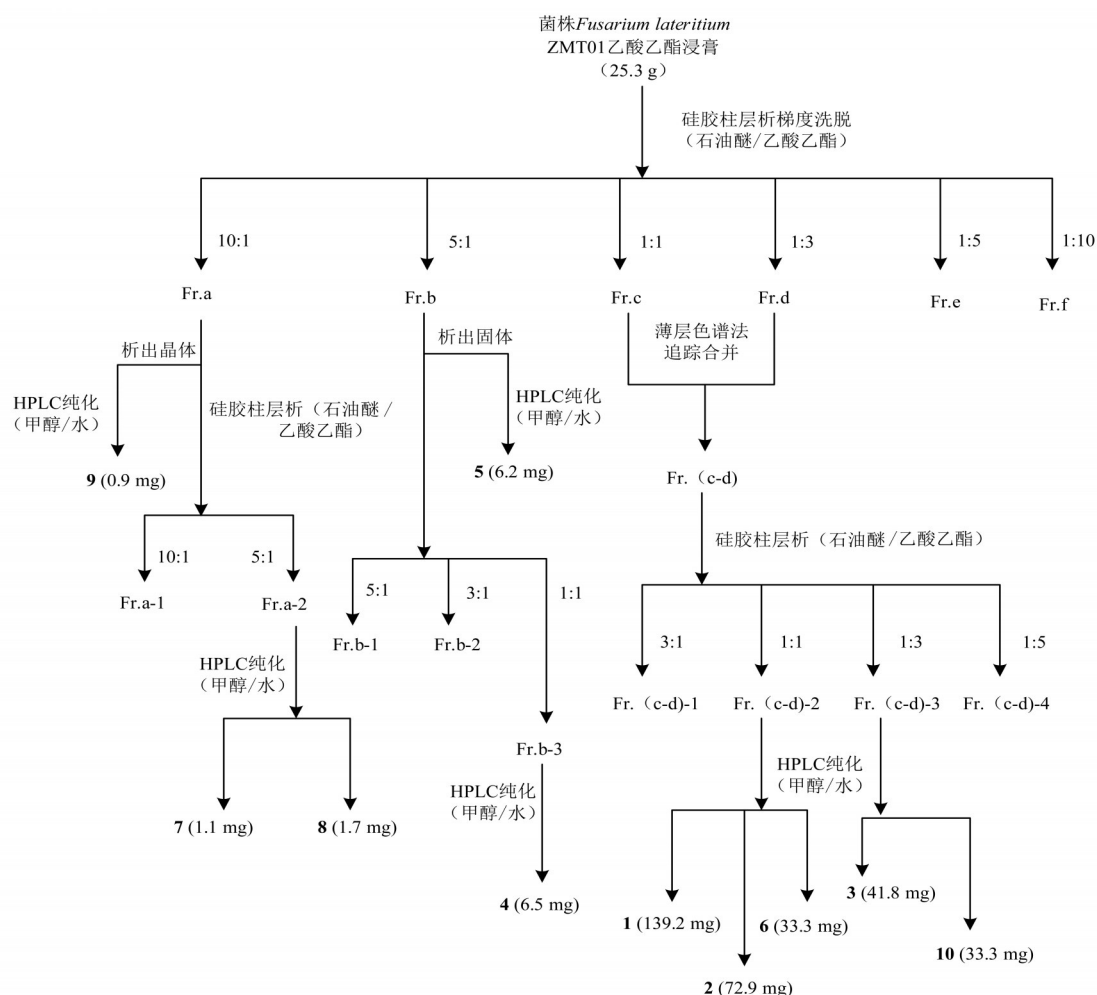


图 2 菌株 *Fusarium lateritium* ZMT01 次级代谢产物 **1**~**10** 分离流程图

Fig. 2 The separation process of the secondary metabolites **1**~**10** from *Fusarium lateritium* ZMT01

1.3 体外抗菌活性测试

采用二倍稀释法 (Bhat et al., 2011) 体外测试化合物 **1**~**6**, **10** 对血清型大肠杆菌 (O6, O78)、金黄色葡萄球菌、禾谷镰孢菌和尖孢镰孢菌的抗菌活性, 用最小抑菌质量浓度 MIC 表示活性强弱, 致病细菌以头孢拉定为阳性对照, 植物病原真菌以三唑酮为阳性对照。

1.4 化合物波谱数据

化合物 **1**: $C_{13}H_{16}O_5$, 无色晶体, ESI-MS: m/z 253.1 $[M+H]^+$, $[\alpha]_D^{20} = +209$ (c 0.61, MeOH), CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$), 207 (+2.93), 246 (+0.22), 291 (+1.14), 1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 4.86 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H-3), 4.51 (m, 1H, H-9), 4.25 (d, $J=6.5$ Hz, 1H, H-10), 3.64 (brt, $J=8.0$ Hz, 1H, H-6'),

3.52 (d, $J=3.9$ Hz, 3H, H-12), 3.22 (m, 1H, H-3'), 2.31 (m, 1H, H-5), 2.19 (m, 1H, H-5), 2.09 (m, 1H, H-6), 2.03 (m, 1H, H-6), 1.39 (d, $J=6.5$ Hz, 3H, H-11), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 214.4 (C-4, C), 162.3 (C-7, C), 154.4 (C-2, C), 131.5 (C-1, C), 87.9 (C-3, CH), 80.5 (C-9, CH), 68.8 (C-10, CH), 60.2 (C-12, CH_3), 50.9 (C-3', CH), 43.9 (C-6', CH), 37.7 (C-5, CH_2), 23.6 (C-6, CH_2), 17.5 (C-11, CH_3)。

化合物 2: $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$, 黄色油状物, ESI-MS: m/z 253.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +281$ (c 0.15, MeOH), CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$), 234 (+10.77), 264 (-0.84), 296 (+3.38), ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 4.80 (t, $J=9.0$ Hz, 1H, H-6), 4.49 (dq, $J=6.6, 13.1$ Hz, 1H, H-3), 4.27 (t, $J=6.0$ Hz, 1H, H-4), 3.60 (q, $J=8.8$ Hz, 1H, H-11), 3.47 (s, 3H, H-14), 3.10 (q, $J=8.1$ Hz, 1H, H-7), 2.18 (m, 1H, H-9), 2.14 (m, 1H, H-9), 2.12 (m, 1H, H-10), 2.01 (m, 1H, H-10), 1.36 (dd, $J=6.5, 10.9$ Hz, 3H, H-13), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 215.3 (C-8, C), 162.6 (C-1, C), 156.8 (C-5, C), 131.3 (C-12, C), 84.8 (C-6, CH), 81.1 (C-3, CH), 65.4 (C-4, CH), 60.2 (C-14, CH_3), 51.6 (C-7, CH), 45.0 (C-11, CH), 38.4 (C-9, CH_2), 24.3 (C-10, CH_2), 18.5 (C-13, CH_3)。

化合物 3: $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$, 黄色油状物, ESI-MS: m/z 253.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +272$ (c 0.1, MeOH), ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 4.93 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-4), 4.84 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-6), 4.10 (m, 1H, H-3), 3.60 (m, 1H, H-11), 3.49 (m, 1H, H-7), 3.47 (s, 3H, H-14), 2.26 (m, 1H, H-10), 2.24 (m, 1H, H-10), 2.15 (m, 1H, H-9), 1.95 (m, 1H, H-9), 1.26 (m, 3H, H-13), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 214.4 (C-8, C), 171.8 (C-5, C), 168.3 (C-1, C), 140.3 (C-12, C), 83.2 (C-4, CH), 82.5 (C-6, CH), 67.0 (C-3, CH), 59.9 (C-14, CH_3), 58.1 (C-7, CH), 40.0 (C-11, CH), 38.2 (C-9, CH_2), 23.1 (C-10, CH_2), 18.6 (C-13, CH_3)。

化合物 4: $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$, 红色针状晶体, ESI-MS: m/z 293.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +250$ (c 0.1, MeOH), ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 13.31 (s, 1H, OH-5), 13.02 (s, 1H, OH-8), 6.17 (s, 1H, H-3), 4.16 (p, $J=6.3$ Hz, 1H, H-10), 3.92 (s, 3H, H-13), 2.94 (d, $J=6.4$ Hz, 2H, H-9), 2.35 (s, 3H, H-12), 1.33 (d, $J=6.2$ Hz, 3H, H-11), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3)

δ 184.2 (C-4, C), 177.7 (C-1, C), 162.6 (C-8, C), 160.9 (C-5, C), 160.6 (C-2, C), 142.5 (C-6, C), 138.6 (C-7, C), 109.7 (C-8', C), 109.6 (C-3, CH), 108.0 (C-4', C), 67.9 (C-10, CH), 56.9 (C-13, CH_3), 36.3 (C-9, CH_2), 24.1 (C-11, CH_3), 13.2 (C-12, CH_3)。

化合物 5: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 红色针状晶体, ESI-MS: m/z 291.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 13.24 (s, 1H, OH-9), 12.85 (s, 1H, OH-8), 6.20 (s, 1H, H-7), 3.93 (s, 3H, H-15), 3.90 (s, 2H, H-11), 2.29 (s, 3H, H-14), 2.23 (s, 3H, H-13), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 203.9 (C-12, C), 184.5 (C-4, C), 177.9 (C-1, C), 161.5 (C-6, C), 160.7 (C-8, C), 160.5 (C-9, C), 142.6 (C-2, C), 134.3 (C-3, C), 109.8 (C-10, C), 109.7 (C-7, CH), 108.5 (C-5, C), 56.9 (C-15, CH_3), 41.3 (C-11, CH_2), 30.1 (C-13, CH_3), 13.0 (C-14, CH_3)。

化合物 6: $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$, 棕色固体, ESI-MS: m/z 293.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -39.9$ (c 0.12, acetone), ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 11.63 (s, 1H, OH-6), 6.34 (s, 1H, H-7), 5.38 (s, 1H, H-10), 4.17 (dd, $J=5.6, 9.3$ Hz, 1H, H-4), 3.88 (s, 3H, H-12), 3.76 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, H-4), 2.98 (d, $J=5.5$ Hz, 1H, H-3), 2.85 (dd, $J=5.8, 7.9$ Hz, 1H, H-2), 2.75 (dd, $J=7.9, 18.0$ Hz, 1H, H-1), 2.48 (dd, $J=5.8, 18.0$ Hz, 1H, H-1), 2.18 (s, 3H, H-13), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 206.1 (C-11, C), 203.6 (C-5, C), 158.9 (C-6, C), 154.5 (C-8, C), 134.6 (C-9, C), 127.6 (C-9', C), 107.3 (C-5', C), 99.0 (C-7, CH), 74.7 (C-10, CH), 66.5 (C-4, CH_2), 56.4 (C-12, CH_3), 54.1 (C-3, CH), 44.1 (C-2, CH), 44.0 (C-1, CH_2), 30.4 (C-13, CH_3)。

化合物 7: $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_2$, 白黄色粉末, ESI-MS: m/z 341.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6) δ 7.09 (s, 4H, H-5, H-5', H-3, H-3'), 5.89 (s, 2H, H-1, H-1'), 3.94 (s, 2H, H-12), 2.32 (s, 6H, H-4, H-4'), 1.47 (s, 18H, H-9, H-9', H-10, H-10', H-11, H-11'), ^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6) δ 150.1 (C-1, C-1', C), 141.4 (C-6, C-6', C), 138.3 (C-4, C-4', C), 130.4 (C-5, C-5', CH), 129.1 (C-3, C-3', CH), 126.4 (C-2, C-2', C), 34.0 (C-12, CH_2), 32.1 (C-7, C-7', CH_3), 30.2 (C-8, C-8', C), 21.1 (C-9, C-9', C-10, C-10', C-11, C-11', CH_3)。

化合物 8: $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$, 无色晶体, ESI-MS: m/z 247.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.31

(m, 1H, H-8), 7.24 (m, 1H, H-7), 7.12 (s, 1H, H-1), 6.84 (m, 1H, H-6), 6.60 (d, $J=6.0$ Hz, 1H, H-3), 4.61 (s, 2H, H-9), 4.43 (sept, $J=6.0$ Hz, 1H, H-11), 3.79 (s, 3H, H-10), 1.37 (d, $J=6.0$ Hz, 6H, H-12, H-13), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 157.0 (C-4, C), 153.9 (C-5, C), 139.1 (C-2, C), 137.1 (C-7, CH), 125.9 (C-1', C), 121.6 (C-8, CH), 118.7 (C-1, CH), 118.0 (C-4', C), 113.1 (C-3, CH), 105.0 (C-6, CH), 72.9 (C-11, CH), 64.6 (C-9, CH_2), 55.9 (C-10, CH_3), 21.7 (C-12, CH_3), 21.6 (C-13, CH_3)。

化合物 9: $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, 白色粉末, ESI-MS: m/z 415.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -27$ (c 0.1, CHCl_3), ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 5.35 (t, $J=6.4$ Hz, 1H, H-6), 3.50 (tdd, $J=3.8, 4.2, 4.5$ Hz, 1H, H-3), 2.27~1.08 (m, 29H, H-1~2, H-4, H-7, H-8~9, H-11~12, H-14, H-15~16, H-17~18, H-20~21, H-22, H-23, H-25), 1.02 (s, 3H, H-29), 0.94 (d, $J=6.5$ Hz, 3H, H-19), 0.85 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-24), 0.82 (d, $J=6.4$ Hz, 3H, H-26), 0.80 (d, $J=6.4$ Hz, 3H, H-27), 0.66 (s, 3H, H-28), ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 141.1 (C-5, C), 122.0 (C-6, CH), 72.1 (C-3, CH), 57.0 (C-14, CH), 56.1 (C-17, CH), 50.4 (C-9, CH), 46.1 (C-22, CH), 43.0 (C-4, CH_2), 42.5 (C-13, C), 40.0 (C-12, CH_2), 37.6 (C-1, CH_2), 36.7 (C-18, CH), 36.5 (C-10, C), 34.0 (C-20, CH_2), 32.3 (C-7, CH_2), 32.1 (C-8, CH), 32.0 (C-2, CH_2), 29.3 (C-25, CH), 28.4 (C-16, CH_2), 26.3 (C-21, CH_2), 26.3 (C-15, CH_2), 23.2 (C-23, CH_2), 21.2 (C-11, CH_2), 20.0 (C-26, CH_3), 19.5 (C-27, CH_3), 19.3 (C-19, CH_3), 18.9 (C-28, CH_3), 12.1 (C-24, CH_3), 12.0 (C-29, CH_3)。

化合物 10: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$, 淡黄色油状物, ESI-MS: m/z 129.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -31.5$ (c 0.45, CHCl_3), ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 5.81 (d, $J=1.6$ Hz, 1H, H-2), 4.41 (dd, $J=3.9, 11.9$ Hz, 1H, H-5), 4.28 (dd, $J=4.5, 11.9$ Hz, 1H, H-5), 4.16 (t, $J=4.2$ Hz, 1H, H-4), 2.07 (s, 3H, H-6), ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 166.1 (C-1, C), 161.1 (C-3, C), 117.3 (C-2, CH), 72.6 (C-5, CH_2), 64.8 (C-4, CH), 19.9 (C-6, CH_3)。

2 结果与讨论

化合物 1: ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 253.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合 ^1H 和 ^{13}C NMR 推测其分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$, 不饱和度为 6。 ^1H NMR 谱图中, δ_{H} 1.39

为甲基质子信号, δ_{H} 2.31~2.03 为亚甲基质子信号, δ_{H} 3.52 为甲氧基信号。 ^{13}C NMR 谱图中, 存在 2 个羰基碳 (δ_{C} 214.4, 162.3), 2 个烯碳 (δ_{C} 154.4, 131.5), 1 个甲氧基碳 δ_{C} 60.2, 其中双键, 2 个羰基占 3 个不饱和度, 故推测化合物具有三环体系。结合分子式, 可知还含有 1 个 -OH。据此与 Chen et al. (2018) 波谱、比旋光度及 CD 数据对比基本一致, 鉴定为 fusopoltide A。

化合物 2: 比较化合物 2 和 1 的 ^{13}C NMR 数据, 仅 δ_{C} 84.8 处与化合物 1 的 δ_{C} 87.9 相比差异明显, 推测连接甲氧基处的手性碳相对于 1 有不同构型。与 Arieffa et al. (2019) 的波谱、比旋光度及 CD 数据对比基本一致, 鉴定为 fusopoltide B。

化合物 3: 波谱数据与 1、2 类似, 表明具有与 1、2 相似的三环结构, 但 3 的 ^{13}C NMR 谱 δ_{C} 171.8 (C-5) 的信号与 1 的 δ_{C} 156.8 (C-5) 有显著不同, 推测原六元内酯环转变成为五元内酯环, 据此与 Arieffa et al. (2019) 的波谱及比旋光度数据对比基本一致, 鉴定为 fusopoltide D。

化合物 4: ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 293.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 相对分子质量为 292, 结合化合物的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据推测分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$, 不饱和度为 8。 ^1H NMR 谱在高场区有 2 个甲基信号 (δ_{H} 2.35, 1.33), 1 个亚甲基信号 δ_{H} 2.94, 1 个甲氧基信号 δ_{H} 3.92; 在低场区有 2 个酚羟基信号 (δ_{H} 13.31, 13.02), 1 个共轭烯氢信号 δ_{H} 6.17。 ^{13}C NMR 谱显示 2 个羰基碳 (δ_{C} 184.2, 177.7), 8 个 sp^2 杂化的碳, 用去了 6 个不饱和度, 因此化合物 4 还具有双环体系, 结合 ^{13}C NMR 谱中 2 个典型的与双键共轭的羰基碳化学位移值 δ_{C} 184.2 和 177.7, 推测该化合物具有萘醌骨架。据此与 Kimura et al. (1988) 的波谱及比旋光度数据对比基本一致, 鉴定为 solaniol。

化合物 5: 化合物 5 和 4 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 谱十分类似, 表明具有相同萘醌骨架, ^{13}C NMR 谱中, 前者比后者多出 1 个 δ_{C} 203.9 的脂肪酮羰基碳, 少了 1 个连氧的 δ_{C} 67.9 的次甲基碳信号, 推测前者是后者支链上的羟基氧化成羰基的衍生物, 进一步与 Chowdhury et al. (2017) 的波谱数据对比一致, 鉴定为 javanicin。

化合物 6: 通过 ESI-MS, ^{13}C NMR 谱和元素分析确定分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$, 不饱和度为 8。 ^1H NMR 谱 δ_{H} 6.34 表明存在 1 个五取代苯环, δ_{H} 11.63 (s, 1H) 是和羰基形成分子内氢键的羟基

信号。 ^{13}C NMR 谱显示 2 个羰基碳(δ_{C} 206.1, 203.6), 6 个 sp^2 杂化的碳, 剩余 2 个不饱和度, 表明除苯环外, 分子中还存在另外 2 个环; δ_{C} 74.7, 66.5 的 2 个处于较低场的连氧脂肪碳, 结合其余的碳信号, 推测其中一个环是环己酮, 另一个是与之桥接的五元氧杂环。由此判断化合物 6 属于苯并环己酮类型且环己酮桥接了 1 个五元氧杂环。 ^1H NMR 谱 δ_{H} 3.88 (s, 3H) 和 2.18 (s, 3H) 表明存在 1 个甲基和 1 个甲氧基, 2.75 (dd, $J=7.9$, 18.0 Hz, 1H), 2.48 (dd, $J=5.8$, 18.0 Hz, 1H) 是与手性碳相连的亚甲基, δ_{H} 5.38 (s, 1H) 推测是同时和氧及双键相连的次甲基信号, 3.76 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 4.17 (dd, $J=5.6$, 9.3 Hz, 1H) 是连氧的亚甲基信号, 2.98 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 2.85 (dd, $J=5.8$, 7.9 Hz, 1H) 是 2 个次甲基信号。据此与 Kornsakulkarn et al. (2011) 的波谱和比旋光度数据对比基本一致, 鉴定为 (1*S*, 4*S*, 10*S*)-3,4-dihydro-6,9-dihydroxy-8-methoxy-10-(2-oxopropyl)-1,4-methano-2-benzoxepin-5 (1*H*)-one。

化合物 7: ESI-MS 谱 m/z 341.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H NMR 谱 δ_{H} 7.09 (s, 4H) 表明存在 2 个对称的 1,2,4,6-四取代苯环, δ_{H} 1.47 (s, 18H) 表明含有 2 个叔丁基, δ_{H} 2.32 (s, 6H) 表明存在 2 个甲基, δ_{H} 5.89 (s, 2H) 滴加重水交换后信号消失, 表明是 2 个羟基, 因此 δ_{H} 3.94 (s, 2H) 是连接 2 个苯环的亚甲基。以上分析与 ^{13}C NMR 谱信号显示的结构信息吻合。据此与 Ai Zoubi et al. (2017) 的波谱数据对比基本一致, 鉴定为 2,2'-methylenebis (4-methyl-6-tert-butylphenol)。

化合物 8: 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$ 通过 ESI-MS, ^1H 和 ^{13}C NMR 谱确定, 不饱和度为 7。 ^{13}C NMR 谱中 δ_{C} 105.0~157.0 是 10 个 sp^2 杂化的碳, 推测化合物具有萘环。 ^1H NMR 谱 δ_{H} 4.61 (s, 2H) 表明存在羟甲基, δ_{H} 3.79 (s, 3H) 是甲氧基信号, δ_{H} 4.43 (sept, $J=6.0$ Hz, 1H), 1.37 (d, $J=6.0$ Hz, 6H) 推测是与氧相连的异丙基。进一步与 Bringmann et al. (1998) 的数据对比基本一致, 鉴定为 2-hydroxymethyl-5-isopropoxy-4-methoxynaphthalen。

化合物 9: ^1H NMR 谱 δ_{H} 2.27~1.08 (29 H) 的连续多重峰信号及积分情况表明具有多个亚甲基和次甲基且相互重叠, 同时 δ_{H} 0.66~1.02 高场区显示了 6 组甲基信号, 它们与 ^{13}C NMR 谱中 δ_{C} 12.0~57.0 中大量的甲基、亚甲基次甲基碳信号相吻合, 符合甾醇类物质的核磁波谱特征 (Gao et al., 2022)。

此外, ^{13}C NMR 谱中还观察到 1 组双键碳 δ_{C} 141.1 (s, C-5), 122.0 (s, C-6) 和环上连羟基的碳 δ_{C} 72.1 (s, C-3) 信号。据此与 Chaturvedula et al. (2012) 的数据对比基本一致, 鉴定为 β -sitosterol。

化合物 10: ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 129.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合 ^1H 和 ^{13}C NMR 谱推测分子式为 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$, 不饱和度为 3。 ^{13}C NMR 谱中 δ_{C} 166.1, 161.1, 117.3 表明存在 1 个酯羰基碳和 1 个双键, 且互相共轭, 剩余不饱和度表明还具有 1 个环状结构单元, 推测为六元内酯环。 ^1H NMR 谱图中, δ_{H} 4.41, 4.28, 4.19 是连氧的质子信号, δ_{H} 2.07 (s, 3H) 是甲基信号, 结合分子式, 表明还有 1 个羟基, 据此与 Kim et al. (2011) 的波谱及比旋光度数据对比基本一致, 鉴定为 walterolactone A。

从内生真菌 *Fusarium lateritium* ZMT01 分离到上述 10 个次生代谢产物, 化合物 1~6 属于聚酮类, 化合物 7、8 属于酚类, 化合物 9 属于甾醇, 化合物 10 属于内酯类。化合物 1~3 的可能的生源合成途径及关系已有报道: 6 个乙酰辅酶 A 经聚合得到六酮 (Hexaketide), 再经环化、重排、氧化、甲基化得到共同前体, 接着通过两种不同的环氧化得到 (3*S*, 4*S*) 和 (3*R*, 4*R*) 两种中间体, 前者经 1,3 环化和 1,4 环化分别得到化合物 2 和 3, 后者经 1,3 环化得到化合物 1 (Arief et al., 2019)。根据化合物 10 的结构特点结合化合物 1~3 的生源合成途径, 推测其可能的生源合成途径为 2 个乙酰辅酶 A 先聚合为乙酰乙酰辅酶 A, 再和 1 个乙酰辅酶 A 聚合为甲戊二羟酸, 接着经过氧化、环化、脱水形成产物。化合物 8、10 为首次从 *Fusarium* 属中分离得到, 丰富了镰刀菌属的代谢产物库。除化合物 9 外, 其他化合物均为首次从 *Fusarium lateritium* 中得到, 丰富了砖红镰刀菌的次生代谢产物库。

化合物 2 曾被报道对环氧合酶-2 (COX-2) 具有显著的抑制作用 (Chen et al., 2018), 化合物 4 能显著下调 HMG-CoA 合成酶基因表达, 同时还具有抗结核分枝杆菌 H37Rv 株的活性, MIC 为 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Niu et al., 2019; Shah et al., 2017), 化合物 6 具有抗结核分枝杆菌的活性, MIC 为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Kornsakulkarn et al., 2011), 化合物 7 是一种抗氧化剂, 在 1 mmol/L 下清除 DPPH 活性与没食子酸相当 (Ai Zoubi et al., 2017)。本文进一步测试了所分离化合物对大肠杆菌 (O6, O78 血清型) 等病原菌的抑菌活性, 化合物 4、5 对人致病性 O6 血清型大肠杆菌的 MIC 均为 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 与阳性对照头孢拉定活性接

近(MIC 3.13 $\mu\text{g/mL}$), 化合物4对引起番茄枯萎病的尖孢镰孢菌的MIC为200 $\mu\text{g/mL}$, 显示中等抗菌活性(阳性对照三唑酮MIC 100 $\mu\text{g/mL}$), 其余化合物对所测病原菌的MIC均高于200 $\mu\text{g/mL}$ 。本文筛选出化合物4、5对O6血清型大肠杆菌有强抑菌作用,

为抗O6血清型大肠杆菌药物的研究提供了先导化合物。化合物4具有中等抗尖孢镰孢菌活性, 可进一步开展活性优化或温室作物防病研究, 为防治番茄枯萎病农药的研制提供相应的理论基础。

参考文献:

- 陈晓晴,梁翠芳,林慧美,等,2020.海南东寨港红树林内生真菌 *Fusarium* sp. 的含氮代谢产物[J]. 中山大学学报(自然科学版),59(3):82-86.
- 陈敏,周丹丽,祝均杰,等,2016.一株红树林真菌 *Alternaria* sp. R6固相培养代谢产物研究[J]. 中山大学学报(自然科学版),55(3):117-121.
- 徐晓,孙飞飞,尹彩萍,等,2018.昆虫共生菌的次级代谢产物研究进展[J]. 微生物学报,58(6):1126-1140.
- 郑林宇,伦才智,柳丽君,等,2022.昆虫共生菌调控宿主生长发育和生殖的研究进展[J]. 植物保护学报,2022,49(1):207-219.
- AI ZOUBI W, KARABET F, AI BANDAKJI R, et al, 2017. Experimental and theoretical investigations of the antioxidant activity of 2, 2'-methylenebis (4, 6-dialkylphenol) compounds[J]. Appl Organomet Chem,31(2):e3562.
- ARIEFTA N R, NIKMMAWAHDA H T, KOSEKI T, et al, 2019. Fusopoltides B-E, new polyketides isolated from *Fusarium solani* B-18 [J]. Tetrahedron Lett, 60 (52) : 151361.
- BHAT A R, TAZEEM, AZAM A, et al, 2011. 3-(1, 3, 4-Thiadiazole-2-yl) quinoline derivatives: synthesis, characterization and anti-microbial activity [J]. Eur J Med Chem,46(7):3158-3166.
- BRINGMANN G, HOLENZ J, WEIRICH R, et al, 1998. First synthesis of the antimalarial naphthylisoquinoline alkaloid dioncophylline C, and its unnatural anti-HIV dimer, jozimine C[J]. Tetrahedron,54(3/4):497-512.
- CHATURVEDULA V S P, PRAKASH I, 2012. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus* [J]. Int J Pharm, 1 (9) : 239-242.
- CHOWDHURY N S, SOHRAB H M, RANA S M, et al, 2017. Cytotoxic naphthoquinone and azaanthraquinone derivatives from an endophytic *Fusarium solani*[J]. J Nat Prod, 80(4):1173-1177.
- CHEN K L, SUN W G, BIE Q, et al, 2018. Fusopoltide A and fusosterede A, a polyketide with a pentaleno [1, 2-c] pyran ring system and a degraded steride, from the fungus *Fusarium solani* [J]. Tetrahedron Lett, 59 (27) : 2679-2682.
- GAO Z H, DUAN Z K, MA Z T, et al, 2022. Chouchunsteride A-D, four new steroids from the leaves of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle[J]. Steroids, 188:109117.
- KIMURA Y, SHIMADA A, NAKAJIMA H, et al, 1988. Structures of naphthoquinones produced by the fungus, *Fusarium* sp., and their biological activity toward pollen germination[J]. Agric Biol Chem, 52(5):1253-1259.
- KORNSAKULKARN J, DOLSOPHON K, BOONYUEN N, et al, 2011. Dihydronaphthalenones from endophytic fungus *Fusarium* sp. BCC14842 [J]. Tetrahedron, 67 (39):7540-7547.
- KIM K H, SHIN Y J, CHOI S U, et al, 2011. New cytotoxic δ -valerolactones from *Cornus walteri* [J]. Bull Korean Chem Soc,32(7):2443-2445.
- LI M Z, YU R L, BAI X L, et al, 2020. *Fusarium*: a treasure trove of bioactive secondary metabolites [J]. Nat Prod Rep,37:1568-1588.
- LI S, SHAO M W, LU Y H, et al, 2014. Phytotoxic and antibacterial metabolites from *Fusarium proliferatum* ZS07 isolated from the gut of long-horned grasshoppers [J]. J Agr Food Chem,62(36):8997-9001.
- NIU S W, TANG X X, FAN Z W, et al, 2019. Fusarisolins A-E, polyketides from the marine-derived fungus *Fusarium solani* H918[J]. Mar Drugs, 17(2):125.
- SHAH A, RATHER M A, HASSAN Q P, et al, 2017. Discovery of antimicrobial and antitubercular molecules from *Fusarium solani*: An endophyte of *Glycyrrhiza glabra*[J]. J Appl Microbiol,5(1):1168-1176.
- XU M J, HUANG Z W, ZHU W J, et al, 2023. *Fusarium*-derived secondary metabolites with antimicrobial effects [J]. Molecules,28(8):3424.
- ZHU J J, XIONG P, LI Z Y, et al, 2022. Antifungal sesquiterpenes with post-harvest anthracnose control effect on bananas from the fungus *Fusarium lateritium* [J]. Nat Prod Res,36(5):1245-1252.