

中国南海海洋真菌资源及其活性次级代谢产物研究评述

王庆琳^{1,2}, 陈水浩³, 陈冬妮^{1,2,3}, 刘 岚^{2,3}, 余志刚^{2,4}, 陆勇军^{1,2}

- (1. 中山大学 生命科学学院, 广东 广州 510275;
2. 中山大学 生物医药中心, 广东 广州 510275;
3. 中山大学 海洋科学学院, 广东 珠海 519082;
4. 中山大学 化学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 南海海域广阔, 生物资源丰富多样, 其中微生物资源尚未得到全面系统的研究和挖掘。本文回顾了中山大学 25 年来在南海微生物资源及其活性代谢产物方面的研究成果, 着重介绍了近 10 年来本校团队研究红树林真菌资源并对其次生代谢产物开展靶向抗结核、抗炎、抗 II 型糖尿病和抗肿瘤筛选的进展。最后介绍近年来我们利用中山大学海洋科考计划在西沙群岛及其海域初步开展的微生物资源的研究。

关键词: 海洋微生物; 红树林内生真菌; 活性次级代谢产物

中图分类号: R931.77

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2020)05-0505-10

Review on the research of marine fungus resources and their bioactive secondary metabolites from the South China Sea

WANG Qinglin^{1,2}, CHEN Shuihao³, CHEN Dongni^{1,2,3}, LIU Lan^{2,3}, SHE Zhigang^{2,4}, LU Yongjun^{1,2}

- (1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, Guangdong, China;
2. Biomedical Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, Guangdong, China;
3. School of Marine Sciences, Sun Yat-sen University, Zhuhai 519082, Guangdong, China;
4. School of Chemistry, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, Guangdong, China)

Abstract: The South China Sea is vast and rich in biological resources, of which microbial resources have not been comprehensively studied and excavated. This article reviews the achievement of the microbial resources from the South China Sea and the screening for the active secondary metabolites in the past 25 years by Sun Yat-sen University, focusing on our research progress in mangrove endophytic fungi and their active metabolites over the past decade, including the screening of anti-inflammatory, anti-type 2 diabetes, anti-tumor, and anti-tuberculosis. Finally, our current research of microbial resources in Xisha islands and its sea area using the marine scientific research plan of Sun Yat-sen University in recent years is introduced.

Key words: marine microorganism; mangrove endophytic fungus; bioactive secondary metabolite

收稿日期: 2020-05-05 修回日期: 2020-05-28 接受日期: 2020-06-08

作者简介: 王庆琳(1993-), 男, 硕士生, 从事抗结核药物筛选研究工作。E-mail: wangqlin5@mail2.sysu.edu.cn

* 通讯联系人: 陆勇军(1965-), 男, 教授, 从事病原细菌/人体微生物组与宿主互作研究工作/抗结核药物筛选研究工作。E-mail: luyj@mail.sysu.edu.cn

基金项目: 广东省自然资源厅-广东省促进经济高质量发展专项资金-海洋经济发展项目(GDOE[2019]A 35号)

引用格式: 王庆琳, 陈水浩, 陈冬妮, 等. 中国南海海洋真菌资源及其活性次级代谢产物研究评述[J]. 生物资源, 2020, 42(5): 505-514.

Wang Q L, Chen S H, Chen D N, *et al.* Review on the research of marine fungus resources and their bioactive secondary metabolites from the South China Sea [J]. Biotic Resources, 2020, 42(5): 505-514.

0 引言

南海地处热带、亚热带区域,是亚太地区水域面积最大的海区。南海生态系统类型多样,生物物种丰富,同时也是我国最重要的海岛和珊瑚礁、红树林、海草床等生态系统分布区,是全球海域生物多样性最高的地区之一。我国在南海的海域包括了西沙群岛、南沙群岛、东沙群岛和中沙群岛。中山大学是我国最早开展南海资源研究的单位。1928年,广东省政府批准由中山大学承担西沙群岛的开发任务。同年,由中山大学沈鹏飞教授带领的联合考察组,对西沙群岛进行了近半个月的考察,并主持编写了《调查西沙群岛报告书》^[1],其内容涵盖了西沙群岛的历史、地理、主权、海流、气候、物产和磷酸矿等方面,是首次对南海动植物资源的系统调查。全世界目前发现的海洋天然产物超过3.5万种^[2],其中20%源自中国南海海域^[3]。国内有多支科研团队致力于南海海洋生物天然产物研究,其中中国科学院海洋研究所、中国科学院南海海洋研究所、广东省微生物研究所、中山大学和暨南大学等科研院所及高校都是南海海洋微生物天然产物研究的重要力量。1978年中山大学龙康侯教授率领的团队开始南海海洋天然产物的研究工作,取得了很多创新性的成果,赢得了世界性的学术声誉。

海洋微生物代谢产物多样,产生具有生理生化功能活性的化合物(以下称活性化合物)的潜力巨大,从海洋微生物中获取新的活性化合物已成为国内外的研究热点。南海丰富的沿岸红树林及广袤的南海海域蕴藏着极为丰富的海洋微生物资源,是活性化合物的巨大宝库。同时,利用宏基因组技术筛选海洋未培养和不可培养微生物的功能基因或基因簇,可为异源生物合成活性产物奠定基础。因此,自20世纪90年代中期起,龙康侯教授团队的林永成教授与生命科学学院周世宁教授合作,率先开展了南海微生物资源及其代谢产物以及南海基因资源的相关研究,取得了许多重要成果。自1995年到2009年,中山大学累计报道了超过70株能产生各种活性的次生代谢产物的红树林植物内生真菌,鉴定了大约265种内生真菌活性代谢产物,包含了许多结构新颖独特的新结构化合物,许多化合物具有抗菌、抗炎、抗肿瘤和抗氧化等活性^[4]。

近10年来,本校各团队利用综合学科优势,在开展微生物资源收集、次级代谢产物分离鉴定等的基础上,建立了抗肿瘤、抗炎、抗心血管疾病和抗菌(尤其是抗结核靶向筛选)等多种模型,积极开展活

性代谢产物的筛选研究,建立了国家海洋微生物小分子化合物资源库。同时,利用近年来中山大学每年一度的南海海洋科学考察计划,初步开展了西沙群岛及其海域微生物资源的研究工作。下文将重点评述近10年来中山大学各团队的相关合作研究成果。

1 红树林植物内生真菌及其活性次级代谢产物

红树林生长环境独特,所处的高温、高盐、频繁潮汐、缺氧、强风、强紫外线的生态条件,为在植物内部共生的微生物提供了独特的生活环境,蕴藏着丰富并具有特色的微生物资源^[5]。植物内生真菌是在生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物组织内部或细胞间隙而不引起植物产生腐败和明显病症的真菌^[6]。植物内生真菌的次级代谢产物结构类型丰富多样且具有不同的生物活性,能够促进植物吸收养分、适应逆境、抵御病害,维持植物体内微生态的平衡^[7,8]。因此,红树林内生真菌成为天然药物研究开发的重要资源。近十年来我们从红树林分离到的内生真菌可产生多种重要的次级代谢物,具有抗结核、抗炎、抗Ⅱ型糖尿病、抗肿瘤等活性(表1)。

1.1 抗炎活性物质

红树林内生真菌可产生许多具有抗炎活性的次级代谢产物。研究者在广西山口红树林生态自然保护区的秋茄(*Kandelia candel*)分离出拟茎点霉(*Phomopsis* sp.) SYSUQYP-23,在该菌的发酵产物中分离出11种生物碱,其中7种化合物具有抗炎活性^[9]。Farinomalein A(化合物1,图1)、farinomalein B(化合物2,图1)、equisetin(化合物3,图1)的抗炎活性最好,能够明显抑制一氧化氮合酶(iNOS)的活性,IC₅₀分别为5.2、5.6和4.5 μmol/L。2017年从湛江红树林自然保护区的秋茄树(*K. obovata*)中分离到的艾氏伞形菌(*Talaromyces amestolkiae*) YX1能产生7个萜类化合物,包括新结构化合物 amestolkolides A~D^[10]。其中 amestolkolides B(化合物4,图1)具有显著的抗炎活性,能够抑制被脂多糖(LPS)刺激的Raw264.7细胞产生的一氧化氮(NO),其IC₅₀为1.6 μmol/L。此外,在湛江红树林植物红海榄(*Rhizophora stylosa*)中分离到植物内生真菌拟茎点霉33#,从其发酵产物中鉴定出 phochrodines A~D,其中 phochrodines C、D(化合物5、6,图1)能够抑制脂多糖刺激的Raw264.7细胞产生的NO,IC₅₀分别为49和51 μmol/L,phochrodines C还具有抗氧化能力,其清除DPPH自由基能力的EC₅₀值为34 μmol/L^[11]。在广西山口红树林生态自然保

表1 本综述描述的红树林内生真菌及其活性代谢产物

Table 1 Mangrove endophytic fungi and their bioactive compounds reported in this review

化合物编号	来源菌株	主要活性	参考文献
1-3	拟茎点霉 (<i>Phomopsis</i> sp.) SYSUQYP-23	抗炎	[8]
4	艾氏伞形菌 (<i>Talaromyces amestolkiae</i>) YX1	抗炎	[9]
5,6	拟茎点霉 (<i>Phomopsis</i> sp.) 33#	抗炎	[10]
7	子囊菌 (<i>Ascomycota</i> sp.) SK2YWS-L	抗炎	[11]
8	曲霉 (<i>Aspergillus</i> sp.) 16-5B	抗Ⅱ型糖尿病	[12]
9	毛色二孢菌 (<i>Lasiodiplodia</i> sp.) ZJ-HQ1	抗Ⅱ型糖尿病	[13]
10-15	季也蒙毕赤酵母 (<i>Meyerozyma guilliermondii</i>) HZ-Y2	抗Ⅱ型糖尿病	[14]
16,17	丛赤壳菌 (<i>Nectria</i> sp.) HN001	抗Ⅱ型糖尿病	[15]
18-20	青霉菌 (<i>Penicillium</i> sp.) 303#	抗肿瘤	[16]
21	毛色二孢菌 (<i>Lasiodiplodia</i> sp.) 318#	抗肿瘤	[17]
22,23	可可球二孢菌 (<i>Lasiodiplodia theobromae</i>) ZJ-HQ1	抗肿瘤	[18]
24,25	黄色伞形菌 (<i>Talaromyces flavus</i>)	抗肿瘤	[19]
26-29	拟茎点霉 (<i>Phomopsis</i> sp.) HNY29-2B	抗肿瘤	[20]
30-32	链格孢菌 (<i>Alternaria</i> sp.) ZJ9-6B	抗肿瘤	[21,22]
33,34	间座壳菌 (<i>Diaporthe</i> sp.) SYSU-HQ3	抗结核	[23]
35	链格孢菌 (<i>Alternaria</i> sp.) SK11	抗结核	[24]
36-39	曲霉 (<i>Aspergillus</i> sp.) 16-5C	抗结核	[25~27]
40	青霉菌 (<i>Penicillium</i> sp.) ZJ-27	抗结核	[28,29]
41	黑孢霉菌 (<i>Nigrospora</i> sp.)	抗结核	[30~34]
42,43	<i>Penicillium dipodomycicola</i> HN4-3A	抗结核	[35]
44	土曲霉 (<i>Aspergillus terreus</i>) SCSIO 41008	抗结核	[36]
45	伞形菌 (<i>Talaromyces</i> sp.) HZ-YX1	抗结核	[37]
46	费氏曲霉 (<i>Aspergillus fischeri</i>) FS452	抗结核	[38]
47,48	茎点霉 (<i>Phoma</i> sp.) SYSUSK-7	抗菌	[39]
49	拟茎点霉 (<i>Phomopsis</i> sp.) 33#	抗氧化	[40]
50	子囊菌 (<i>Ascomycota</i> sp.) SK2YWS-L	抗氧化	[41]
51,52	曲霉 (<i>Aspergillus</i> sp.) 085242	抗老年痴呆	[42]

护区植物秋茄树的健康叶片分离得到的植物内生真菌子囊菌 (*Ascomycota* sp.) SK2YWS-L 能产生对映异构的 2,3-二芳基茚酮衍生物 (±)-ascomindone D、异戊烯基化聚酮化合物 ascomfurans C 和 ascomarugosin A 及其他 3 个已知化合物^[12]。其中 (±)-ascomindone D (化合物 7, 图 1) 能够抑制被脂多糖刺激的 Raw264.7 细胞产生的 NO, IC₅₀ 值分别为 17.0 和 17.1 μmol/L。

1.2 抗Ⅱ型糖尿病的活性化合物

Ⅱ型糖尿病是由胰岛素耐受或胰岛素分泌障碍所引起的持续高血糖代谢性疾病。 α -葡萄糖苷酶是治疗Ⅱ型糖尿病药物的重要靶点。 α -葡萄糖苷酶抑制剂通过延缓碳水化合物的吸收、降低餐血糖水平达到治疗Ⅱ型糖尿病的效果。在海南东寨港红树林

的无瓣海桑 (*Sonneratia apetala*) 中分离到植物内生真菌曲霉 (*Aspergillus* sp.) 16-5B, 并从其发酵产物中分离得到 3 个具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的化合物: aspergifuranone (化合物 8, 图 2)、异香豆素衍生物和 pestaphthalides A, 它们的 IC₅₀ 分别为 9.05、90.4 和 69.6 μmol/L^[13]。从湛江红树林植物老鼠簕 (*Acanthus ilicifolius*) 中分离到内生真菌可可球二孢菌 (*Lasiodiplodia* sp.) ZJ-HQ1, 在该菌的发酵产物中发现了化合物 9 (图 2) 等 7 个结构相似的 α -葡萄糖苷酶抑制剂, 这些化合物均为 β -二羟基苯甲酸衍生物, 对 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 为 10.1~35.9 μmol/L^[14]。从海南红树林的海桑 (*S. ovata*) 中分离到植物内生真菌 *Nectria* sp. HN001, 在其发酵产物中发现 6 个 α -葡萄糖苷酶抑制剂, 其中有新结构化合物 nectriacids A (化合物 10, 图 2)、nectriacids B-C、12-epicitreol-

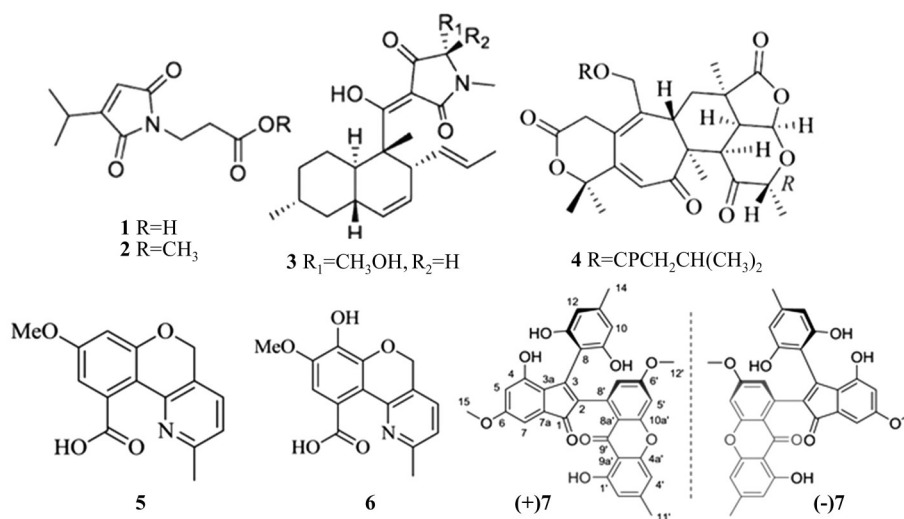


图1 化合物1~7的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-7

isocoumarinol(化合物11,图2),对 α -葡萄糖苷酶的IC₅₀值分别为121.8、23.5、42.3和343.7 $\mu\text{mol/L}$ ^[15]。从惠州红树林秋茄树(*K. obovata*)的根部分离到植物内生真菌季也蒙毕赤酵母(*Meyerozyma guilliermondii*) HZ-Y2,在该菌的发酵产物中发现了10个 α -葡萄糖苷酶抑制剂,其中化合物12~17(图2)的IC₅₀为2.1~15.4 $\mu\text{mol/L}$ ^[16]。这些化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性高于常见降糖药阿卡波糖,显示了潜在的成药前景。

1.3 抗肿瘤活性物质

肿瘤是临床上引起死亡的重要原因之一,但目前部分抗肿瘤药物的毒副作用较大。从天然产物中寻找安全有效的化合物一直是抗肿瘤药物开发研究的热点。从湛江红树林海水和植物海漆(*Excoecaria agallocha*)分别分离得到青霉菌(*Penicillium* sp.) 303#和植物内生真菌毛色二孢菌(*Lasiodiplodia*

dia sp.) 318#^[17,18]。在青霉菌303#的发酵产物中发现14个化合物,其中4个化合物对多种人类癌细胞的生长具有抑制活性,化合物18、19、20(图3)为新结构化合物,对癌细胞生长抑制的IC₅₀范围是7.13~39.64 $\mu\text{g/mL}$ 。在毛色二孢菌318#的发酵产物中发现7个化合物,其中化合物21(图3)具有体外抑制多种人类癌细胞生长的活性,IC₅₀为10.13~39.74 $\mu\text{mol/L}$ 。在湛江红树林的老鼠簕分离得到植物内生真菌可可球二孢菌(*Lasiodiplodia theobromae*) ZJ-HQ1,在其发酵产物中发现11个化合物,其中chloropreussomerins A、B(化合物22、23,图3)为新结构化合物,能够抑制多种人类癌细胞的体外生长,IC₅₀值分别为4.8和27 $\mu\text{mol/L}$ ^[19]。此外化合物22、23能够显著抑制金黄色葡萄球菌的生长,最小抑菌浓度MIC分别为3.2和6.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

从海南东寨港红树林植物无瓣海桑的叶片中分

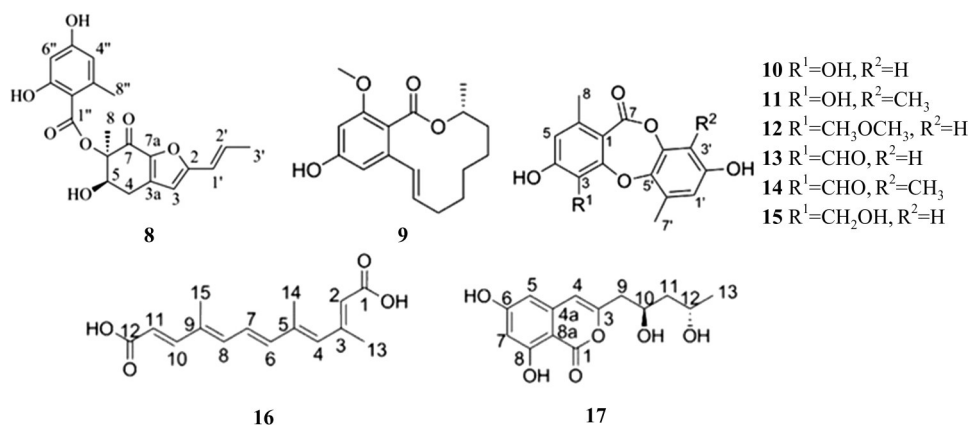


图2 化合物8~17的结构

Fig. 2 Structures of compounds 8-17

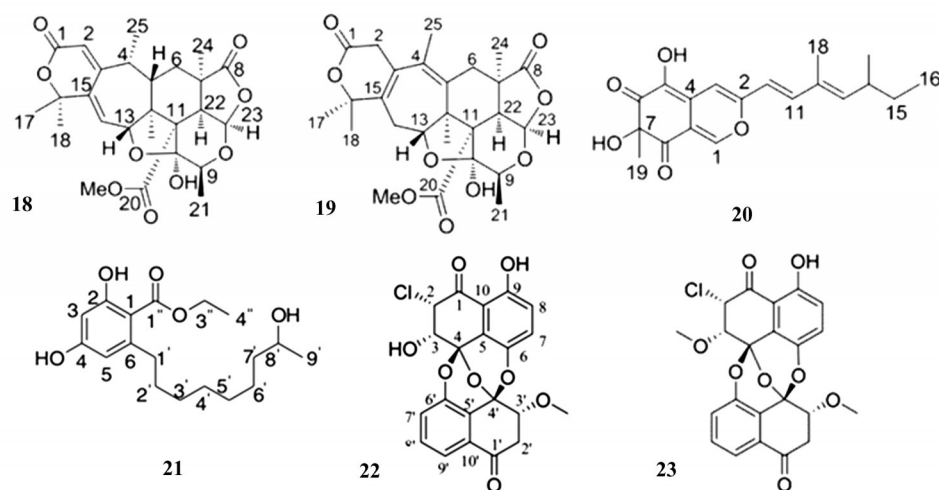


图3 化合物18~23的结构

Fig. 3 Structures of compounds 18-23

离到内生真菌黄色伞形菌(*Talaromyces flavus*),在其发酵产物中分离出5个倍半萜过氧化物,其中talaperoxides A~D为首次报道的化合物^[20]。Talaperoxides B、talaperoxides D(化合物24、25,图4)对5种人类癌细胞的体外生长具有很强的抑制作用,IC₅₀为0.70~2.78 μg/mL。从海南的红树林植物老鼠簕中分离到植物内生真菌拟茎点霉 HNY29-2B,在其发酵产物中发现4个具有抗肿瘤活性的化合物: dicerandrol A, dicerandrol B, deacetylphomoxanthone B 和 penexanthone A(化合物26~29,图4),对受试的人类癌细胞系生长抑制的IC₅₀均小于10 μmol/L^[21]。从桐花树(*Aegiceras corniculatum*)中分离到内生真菌链格孢菌(*Alternaria* sp.) ZJ9-6B,在其发酵产物中分离出两个新型化合物 3R,5R-sonnerlactone 和 3R,5S-sonnerlactone(化合物30、31,图4),在100 μmol/L 浓度下对多耐药的人类口腔鳞癌细胞生长

的抑制率分别为42.4%和41.6%^[22]。研究者在链格孢菌 ZJ9-6B 的发酵产物中再次发现具有抑癌活性的新结构化合物 alterporriol L(化合物32,图4G),对人乳腺癌细胞(MCF-7)和人乳腺癌高转移细胞(MDAMB-435)的IC₅₀分别为20.04和13.11 μmol/L^[23]。

1.4 靶向抗结核活性化合物

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引起的传染病,感染了全球近三分之一的人口,迄今仍是世界性的公共卫生难题。我国是全球结核病负担最重的国家之一。耐药MTB的出现加剧了结核病治愈的难度,急需新型的抗结核药物。以MTB的关键毒力蛋白-效应蛋白(effector proteins)为靶点是抗耐药结核新药筛选的重要策略。我们构建了以MTB关键效应蛋白-具有蛋白磷酸激酶活性的PknG、具有蛋白酪氨酸磷酸酶活性

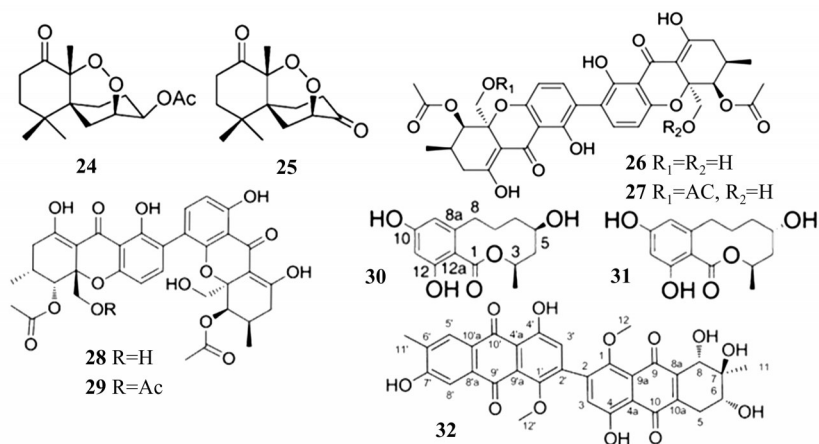


图4 化合物24~32的结构

Fig. 4 Structures of compounds 24-32

的 MptpB 和 MptpA 为靶点的抑制剂筛选系统,从海洋微生物天然产物中筛选抗结核的先导化合物。在珠海红树林的海漆中分离出植物内生真菌间座壳菌 (*Diaporthe* sp.) SYSU-HQ3, 从其发酵产物中发现 diaporisoindoles A 和 tenellone C (化合物 33、34, 图 5) 能够抑制 MptpB 的活性, 其 IC_{50} 值分别为 4.2 和 5.2 $\mu\text{mol/L}$ [24]。从广西山口红树林的海漆的根部分离到的植物内生真菌链格孢菌 SK11, 其发酵产物中的 atropisomer 2 (化合物 35, 图 5) 对 MptpB 具有抑制活性, $IC_{50}=8.7 \mu\text{mol/L}$ [25]。研究者在从海南红树林的无瓣海桑分离到的曲霉 16-5C 发酵产物中发现了 MptpB 抑制剂 asperlone A、B (化合物 36-37, 图 5D) 和 mitorubrin (化合物 38, 图 5), IC_{50} 分别为 4.24、4.32 和 3.99 $\mu\text{mol/L}$ [26]。在曲霉 16-5C 的发酵产物中分离出的 asperterpenoid A (化合物 39, 图 5), 对 MptpB 的 IC_{50} 为 2.2 $\mu\text{mol/L}$ [27]。从曲霉 16-5C 中克隆表达 asperterpenoid A 的基因簇, 在伞形菌属的 *Talaromyces wortmannii* 中成功高效地异源生物合成了 asperterpenoid A, 同时在发酵产物中分离得到具有 MptpB 抑制活性的衍生产物 asperterpenoid B, 其 $IC_{50}=5.67 \mu\text{mol/L}$ [28]。

研究者在源自广东湛江红树林海藻的青霉菌 ZJ-27 的产物中分离到高产量的 sclerotiorin (化合物 40, 图 6) 及其衍生物, 经测定, 发现 sclerotiorin 具有较弱的广谱抗菌活性和细胞毒性 [29]。该化合物能够体外抑制结核分枝杆菌 PknG 的活性 ($IC_{50}=76.5 \mu\text{mol/L}$), 高于目前报道的活性化合物 AX20017; 进一步的实验证明 sclerotiorin 能够显著抑制 MTB 在小鼠单核巨噬细胞 J774A.1 细胞内的增殖, 显示了

良好的成药前景 [30]。源自香港红树林秋茄树 (*K. candel*) 的内生真菌黑孢霉菌 (*Nigrospora* sp.) 次级代谢产物中分离得到 6 个化合物, 其中 bostrycin (化合物 41, 图 6) 具有广谱抗菌活性, 能通过线粒体途径诱导酵母细胞的凋亡 [32]; 通过合成系列衍生物, 测定了衍生物的抗肿瘤活性及构效关系 [33]。进一步的研究发现 bostrycin 及其衍生物能够抑制 MptpB 的活性, 提示该化合物的多靶点活性 [34]。研究者运用蛋白质组学、分子对接分析和生物信息学技术分析亚致死浓度的 bostrycin 对 MTB 的抑制作用, 阐明了 bostrycin 及其衍生物与 MptpB 相互作用的构效关系, 证明 bostrycin 对 MTB 的致死作用是通过影响 NAD 合成和三羧酸循环途径的关键蛋白而实现的 [35]。在海南红树林老鼠簕内生真菌青霉菌属的 *Penicillium dipodomycicola* HN4-3A 的发酵产物中分离到 7 个化合物, 其中化合物 42、43 (图 6) 对 MptpB 具有极强的抑制活性, IC_{50} 分别为 0.16 和 1.37 $\mu\text{mol/L}$ [36]。从徐闻红树林海绵 (*Callyspongia* sp.) 共附生真菌土曲霉 (*Aspergillus terreus*) SCSIO 41008 的发酵产物分离得到 17 个化合物, 其中 butyrolactone I (化合物 44, 图 6) 对 MptpB 具有抑制活性, $IC_{50}=5.11 \mu\text{mol/L}$ [37]。在惠州红树林的秋茄树内生伞形菌 HZ-YX1 的发酵产物中分离到的新型生物碱 talaramide A (化合物 45, 图 6) 对 PknG 具有抑制活性, $IC_{50}=55 \mu\text{mol/L}$ [38]。除此之外, 广东省微生物所章卫民团队和本文作者团队合作, 对在印度洋深海 3 000 m 处 (81°0.00' N, 1°59.987' E) 的沉积物中分离得到的一株费氏曲霉 (*Aspergillus fischeri*) FS452 的发酵产物进行分析, 发现 4 个新型的聚丙烯酸酯

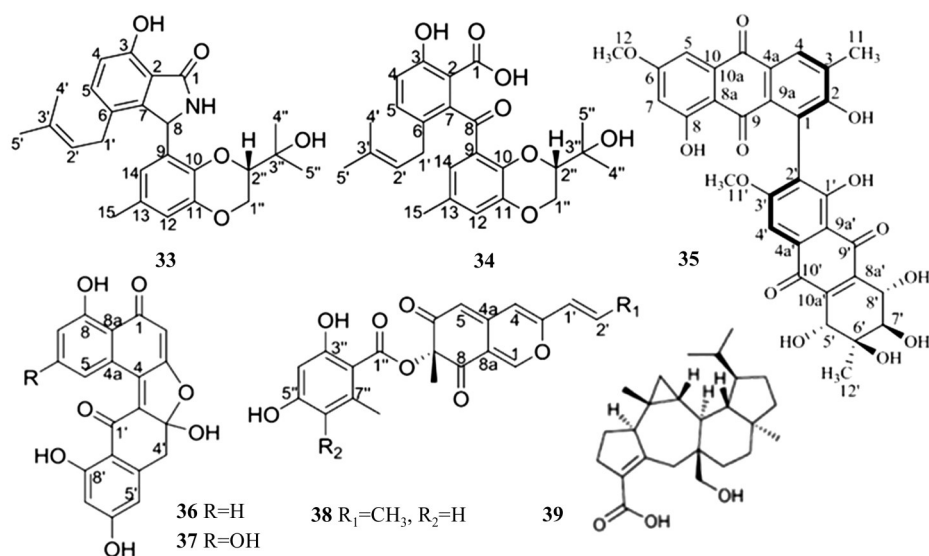


图 5 化合物 33~39 的结构

Fig. 5 Structures of compounds 33-39

化合物对 MptpB 具有良好的抑制活性,其中化合物 46(图 6)的抑制活性最佳, $IC_{50}=4.0 \mu\text{mol/L}$ ^[39]。

1.5 其它活性代谢产物

除以上活性化合物外,我们还在红树内生真菌中发现具有抗菌、抗氧化和抗衰老等活性的代谢产物。在广西山口红树林植物秋茄树内生真菌茎点霉(*Phoma* sp.) SYSUSK-7 的发酵产物中发现 8 个聚酮(polyketides)衍生物,其中化合物 47、48(图 7)能够抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌的生长, MIC 为 $1.67\sim 6.28 \mu\text{g/mL}$ ^[40]。在湛江红树林植物红海榄(*Rhizophora stylosa*)内生真菌拟茎点霉 33# 的发酵产物中分离鉴定 9 个化合物,其中 phochrodines A(化合物 49,图 7)具有抗氧化活性,对 DPPH 清除自由基的 IC_{50} 值为 $34 \mu\text{mol/L}$ ^[41]。在广西山口秋茄树内生真菌子囊菌 SK2YWS-L 的发酵产物中分离出具有抗氧化活性的 ascomindones A(化合物 50,图 7),对 DPPH 清除自由基的 $IC_{50}=18.1 \mu\text{mol/L}$ ^[42]。在广西山口红树林植物老鼠

簕内生真菌曲霉 085242 的发酵产物中分离鉴定得到 2 个乙酰胆碱酯酶抑制剂: asperterpenol A、asperterpenol B(化合物 51、52,图 7), IC_{50} 分别为 2.3 和 $3.0 \mu\text{mol/L}$,具有抗老年痴呆症活性^[43]。

2 其它来源的海洋微生物资源及其代谢产物

2.1 西沙群岛海域共附生微生物分离与代谢产物分析

自 2018 年以来,本校团队利用每年一度的“中山大学南海科学考察”项目,于西沙群岛等海域采集生物样品,分析样品的代谢产物并从样品中分离海洋微生物。两个航次共采集到 540 个样品,包括各种软珊瑚、海绵、海羽星、海鞘、海星、海兔和鱼类等;目前已从中分离到超过 415 株真菌和细菌菌株,分子鉴定 40 多种属。从分离所得的菌株及宿主类型看,不同海洋生物的共附生微生物种类差别较大,反映了该海域海洋微生物的多样性和不同的海洋微生物的宿主特异性。对部分分离菌株的发酵产物分析

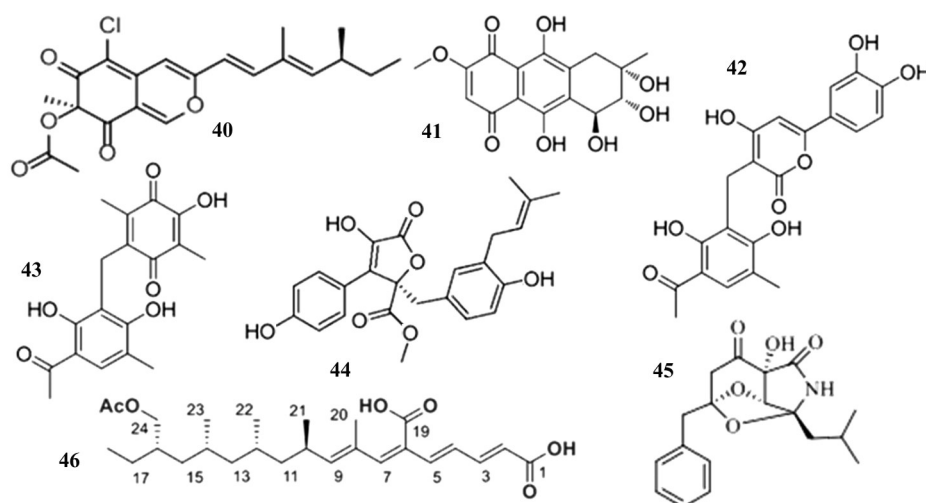


图 6 化合物 40~46 的结构

Fig. 6 Structures of compounds 40-46

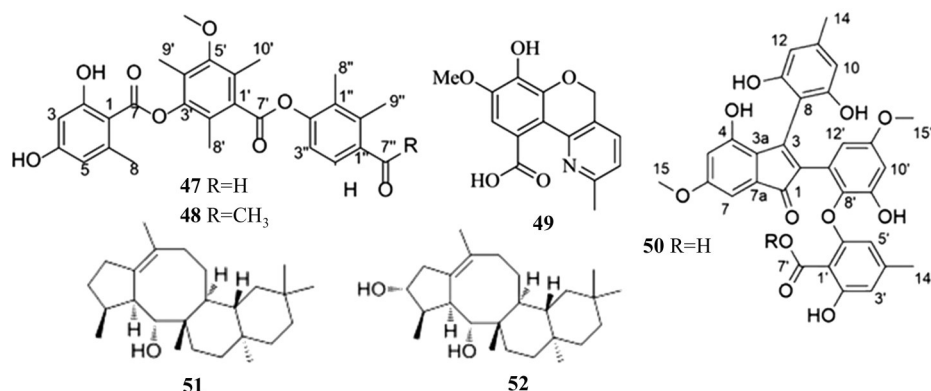


图 7 化合物 47~52 的结构

Fig. 7 Structures of compounds 47-52

在进行中。此外,研究者从永兴岛的软珊瑚(*Sinularia* sp.)中分离得到12个具有抗结核或抗菌活性的多肽。^[44]

2.2 海洋环境微生物分子生态及基因资源挖掘

本校团队还利用宏基因组策略,开展了海洋微生物生态学及功能基因挖掘研究。通过高通量测序测定了南海海域沉积物样本16S rDNA序列,分析了微生物群落组成、丰度、空间与季节变化^[45]。通过构建南海深海沉积物宏基因组文库,我们成功筛选得到具有淀粉酶活性的基因^[46]、用于抗肿瘤治疗的新型甲硫氨酸裂解酶的基因^[47]、新型的藻青素合成酶^[48]以及耐热的新型脂肪酶基因^[49]。这些结果表明深海宏基因组策略有可能发现新颖的功能基因或基因簇。

3 结 语

海洋的特殊生境使海洋中自由生活及共附生微生物具有与陆生微生物不同的生理特性,并产生新颖结构的活性代谢产物,为新药筛选提供了丰富的模式结构化合物来源。虽然海洋真菌及其它微生物资源及其代谢产物功能挖掘已取得了很大的进展,但是,仍是有待深入研究与开发的巨大宝库。然而,基于菌种分离培养的研究策略也有其不足之处,主要是很多海洋微生物尚不能人工培养,或者由于海洋微生物在传代过程或者因环境因素变化,容易导致合成活性次级代谢产物基因的沉默。因此,采取功能驱动的策略,综合利用高通量测序、基因组学、蛋白质组学、代谢组学、高通量靶向筛选和合成生物学等技术,系统开展海洋(尤其是深远海)真菌或其他微生物代谢产物的活性筛选、功能基因组挖掘和异源表达等研究,是未来挖掘海洋微生物活性代谢产物的重要手段。在此基础上,结合药物化学研究的技术,对活性代谢产物进行结构修饰等,将会加速海洋微生物天然产物药物的研发步伐。

参考文献

- [1] 沈鹏飞. 调查西沙群岛报告书[M]. 广州:中山大学出版社, 1928.
- [2] 管华诗, 潘克厚. 浅论海洋生物医药产业发展现状、趋势与建议[J]. 中国海洋经济, 2016(1): 3-13.
- [3] Carroll A R, Copp B R, Davis R A, *et al.* Marine natural products [J]. *Natural Product Reports*, 2019. 36(1): 122-173.
- [4] 林永成. 海洋微生物及其代谢产物[M]. 北京:化学工业出版社, 2003:224-283.
- [5] Lin Y C. Marine microorganisms and their metabolites [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 224-283.
- [6] 邓祖军, 曹理想, 周世宁. 红树林内生真菌的分离及代谢产物生物活性的初步研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2010, 49(2): 100-104.
- [7] Deng Z J, Cao L X, Zhou S L. Isolation and metabolite bioactivities of mangrove fungal endophytes [J]. *Acta Sci Natur Univ*, 2010, 49(2): 100-104.
- [8] 邓祖军, 曹理想, Vrijmoed L P, 等. 红树林植物桐花树内生真菌类群分布的研究[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(3): 77-81.
- [9] Deng Z J, Cao L X, Vrijmoed L P, *et al.* Studies on distribution of fungal endophyte in mangrove plant *Aegiceras corniculatum* [J]. *J Trop Oceanogr*, 2010, 29(3): 77-81.
- [10] Venieraki A, Dimou M, Katinakis P. Endophytic fungi residing in medicinal plants have the ability to produce the same or similar pharmacologically active secondary metabolites as their hosts [J]. *Hell Plant Prot J*, 2017, 10(2): 51-66.
- [11] Dini - Andreote F. Endophytes: The second layer of plant defense [J]. *Trends Plant Sci*, 2020, 25(4): 319-322.
- [12] Chen Y, Zhang L S, Zou G, *et al.* Anti-inflammatory activities of alkaloids from the mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. SYSUQYP-23 [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 97: 103712.
- [13] Chen S H, Ding M, Liu W Y, *et al.* Anti-inflammatory meroterpenoids from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* YX1 [J]. *Phytochemistry*, 2018, 146: 8-15.
- [14] Chen H P, Huang M X, Li X W, *et al.* Phochrodines A - D, first naturally occurring new chromenopyridines from mangrove entophytic fungus *Phomopsis* sp. 33# [J]. *Fitoterapia*, 2018: 103-107.
- [15] Liu Z M, Qiu P, Li J, *et al.* Anti - inflammatory polyketides from the mangrove-derived fungus *Ascomyco*ta sp. SK2YWS-L [J]. *Tetrahedron*, 2017, 74(7): 746-751.
- [16] Liu Y Y, Chen S H, Liu Z M, *et al.* Bioactive metabolites from mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. 16-5B [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(5): 3091-3102.
- [17] Chen S H, Liu Z M, Li H X, *et al.* β -Resorcylic acid derivatives with α -glucosidase inhibitory activity from *Lasiodiplodia* sp. ZJ-HQ1, an endophytic fungus in the

- medicinal plant *Acanthus ilicifolius* [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 13: 141-146.
- [15] Cui H, Liu Y Y, Nie Y, *et al.* Polyketides from the mangrove - derived endophytic fungus *Nectria* sp. HN001 and their α -glucosidase inhibitory activity [J]. *Mar Drugs*, 2016, 14(5): 86.
- [16] Chen S H, Liu Z M, Liu Y Y, *et al.* New depsidones and isoindolinones from the mangrove endophytic fungus *Meyerozyma guilliermondii* (HZ-Y2) isolated from the South China Sea [J]. *Beilstein J Org Chem*, 2015, 11(1): 1187-1193.
- [17] Li J, Yang X, Lin Y Y, *et al.* Meroterpenes and azaphilones from marine mangrove endophytic fungus *Penicillium* 303 [J]. *Fitoterapia*, 2014, 97: 241-246.
- [18] Li J, Xue Y Y, Yuan J, *et al.* Lasiodiplodins from mangrove endophytic fungus *Lasiodiplodia* sp. 318 [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(7): 755-760.
- [19] Chen S H, Chen D N, Cai R L, *et al.* Cytotoxic and antibacterial preussomerins from the mangrove endophytic fungus *Lasiodiplodia theobromae* ZJ-HQ1 [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(9): 2397-2402.
- [20] Li H X, Huang H B, Shao C L, *et al.* Cytotoxic norsesquiterpene peroxides from the endophytic fungus *Talaromyces flavus* isolated from the mangrove plant *Sonneratia apetala* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(5): 1230-1235.
- [21] Ding B, Yuan J, Huang X S, *et al.* New dimeric members of the phomoxanthone family: phomolactonexanthones A, B and deacetylphomoxanthone C isolated from the fungus *Phomopsis* sp. [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(12): 4961-4972.
- [22] Li K K, Lu Y J, Song X H, *et al.* The metabolites of mangrove endophytic fungus Zh6-B1 from the South China Sea [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(11): 3326-3328.
- [23] Huang C H, Jin H, Song B, *et al.* The cytotoxicity and anticancer mechanisms of alterporriol L, a marine bianthraquinone, against MCF-7 human breast cancer cells [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 93(2): 777-785.
- [24] Cui H, Lin Y, Luo M C, *et al.* Diaporisoindoles A - C: three isoprenylisoindole alkaloid derivatives from the mangrove endophytic fungus *Diaporthe* sp. SYSU-HQ3 [J]. *Org Lett*, 2017, 19(20): 5621-5624.
- [25] Xia G P, Li J, Li H X, *et al.* Alterporriol-type dimers from the mangrove endophytic fungus, *Alternaria* sp. (SK11), and their MptpB inhibitions [J]. *Mar Drugs*, 2014, 12(5): 2953-2969.
- [26] Xiao Z E, Lin S E, Tan C B, *et al.* Asperlones A and B, dinaphthalenone derivatives from a mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. 16-5C [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(1): 366-378.
- [27] Huang X S, Huang H B, Li H X, *et al.* Asperterpenoid A, a new sesterterpenoid as an Inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase B from the culture of *Aspergillus* sp. 16-5C [J]. *Org Lett*, 2013, 15(4): 721-723.
- [28] Huang J H, Lü J M, Wang Q Z, *et al.* Biosynthesis of an anti - tuberculosis sesterterpenoid asperterpenoid A [J]. *Org Biomol Chem*, 2019, 17(2): 248-251.
- [29] Zhang L H, Long Y, Lei X L, *et al.* Azaphilones isolated from an alga-derived fungus *Penicillium* sp. ZJ-27 [J]. *Phytochem Lett*, 2016, 18: 180-186.
- [30] Chen D N, Ma S S, He L, *et al.* Sclerotiorin inhibits protein kinase G from *Mycobacterium tuberculosis* and impairs mycobacterial growth in macrophages [J]. *Tuberc Edinb Scotl*, 2017, 103: 37-43.
- [31] Xia X K, Li Q, Li J, *et al.* Two new derivatives of griseofulvin from the mangrove endophytic fungus *Nigrospora* sp. (strain No. 1403) from *Kandelia candel* (L.) Druce [J]. *Planta Med*, 2011, 77(15): 1735-1738.
- [32] Xu C L, Wang J F, Gao Y, *et al.* The anthracenedione compound bostrycin induces mitochondria - mediated apoptosis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *FEMS Yeast Res*, 2010, 10(3): 297-308.
- [33] Chen H, Zhong L L, Long Y H, *et al.* Studies on the synthesis of derivatives of marine-derived bostrycin and their structure - activity relationship against tumor cells [J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(4): 932-952.
- [34] Chen D N, Chen H, She Z G, *et al.* Identification of bostrycin derivatives as potential inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase (MptpB) [J]. *Med Chem Shariqah United Arab Emir*, 2016, 12(3): 296-302.
- [35] Yuan P B, He L, Chen D N, *et al.* Proteomic characterization of *Mycobacterium tuberculosis* reveals potential targets of bostrycin [J]. *J Proteom*, 2020, 212: 103576.
- [36] Li H X, Jiang J Y, Liu Z M, *et al.* Peniphenones A - D from the mangrove fungus *Penicillium dipodomyicola* HN4-3A as inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* phosphatase (MptpB) [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(4): 800-806.
- [37] Luo X W, Lin Y, Lu Y *et al.* Peptides and polyketides isolated from the marine sponge-derived fungus *Aspergillus terreus* SCSIO 41008 [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(2): 149-154.
- [38] Chen S H, He L Q, Chen D N, *et al.* Talaramide A,

- an unusual alkaloid from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces* sp. (HZ-YX1) as an inhibitor of mycobacterial PknG [J]. *New J Chem*, 2017, 41(11): 4273-4276.
- [39] Liu Z M, Wang Q L, Li S N, *et al.* Polypropionate derivatives with *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase B inhibitory activities from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus fischeri* FS452 [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(12): 3440-3449.
- [40] Chen Y, Yang W C, Zou G, *et al.* Bioactive polyketides from the mangrove endophytic fungi *Phoma* sp. SYSU-SK-7 [J]. *Fitoterapia*, 2019, 139: 104369.
- [41] Chen H P, Huang M X, Li X W, *et al.* Phochrodines A - D, first naturally occurring new chromenopyridines from mangrove entophytic fungus *Phomopsis* sp. 33# [J]. *Fitoterapia*, 2018, 124: 103-107.
- [42] Tan C B, Liu Z M, Chen S H, *et al.* Antioxidative polyketones from the mangrove-derived fungus *Ascomy-cota* sp. SK2YWS-L [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 36609-36609.
- [43] Xiao Z E, Huang H R, Shao C L, *et al.* Asperterpenols A and B, new sesterterpenoids isolated from a mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. 085242 [J]. *Org Lett*, 2013, 15(10): 2522-2525.
- [44] Dai Y, Lin Y, Pang X Y, *et al.* Peptides from the soft coral-associated fungus *Simplicillium* sp. SCSIO41209 [J]. *Phytochem*, 2018, 154: 56-62.
- [45] Du J K, Xiao K, Li L, *et al.* Temporal and spatial diversity of bacterial communities in coastal waters of the South China Sea [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6).
- [46] 黄雅丽, 张炯, 曹理想, 等. 深海沉积物宏基因组文库构建及淀粉酶筛选[J]. *海洋学报(中文版)*, 2013, 35(1): 144-148.
- Huang Y L, Zhang J, Cao L X, *et al.* Construction of metagenomic DNA library of deep-sea sediments and screening of amylase [J]. *Acta Oceanol Sin (in Chinese)*, 2013, 35(1):144-148.
- [47] Li H X, Huang Y L, Zhang J, *et al.* Identification and characterization of a novel methionine γ -lyase gene from deep-sea sediment metagenomic library [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2011, 27(11): 2729-2736.
- [48] Du J K, Li L, Ding X, *et al.* Isolation and characterization of a novel cyanophycin synthetase from a deep-sea sediment metagenomic library [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(19): 8619-8628.
- [49] 陆勇军, 周世宁, 龙思梅, 等. 一种新型耐高温脂肪酶基因及其编码产物[P]. CN102732538A, 2012.
- Lu Y J, Zhou S L, Long S M, *et al.* A novel high temperature resistant lipase gene and its encoded product [P]. CN102732538A, 2012.

□

(编辑: 梅 楠)