半红树植物黄槿内生菌及其代谢产物的研究进展

蒋圆婷[1],刘　杨[1],陈德力[2,3*],梁寒峭[1*]

[1]北京城市学院生物医药学部,北京 100083;[2] 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所海南分所 海南省南药资源保护与开发重点实验室,海口 570311;[3] 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所,北京 100193

摘　要:黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)为锦葵科(Malvaceae)木槿属(*Hibiscus*)泛热带的半红树植物,具有清热止咳、解毒消肿等功效。黄槿内生菌可产生与宿主植物相同或相似的化学结构,且其代谢产物中含有结构新奇的活性分子。目前,从黄槿内生菌中分离鉴定出多种内生菌种类,包括赤散囊菌(*Eurotium rubrum*)、团青霉菌(*Penicillium commune*)、草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)、镰刀属(*Fusarium* sp.)真菌等。其内生菌代谢产物,主要活性成分为生物碱类、核苷类、蒽醌类、多取代苯类和三萜类等。现代药理学研究表明黄槿内生菌代谢产物具有抗菌、抗肿瘤、抗炎等多种药理活性。该文综述了近二十年黄槿内生菌的研究现状及其代谢产物和药理活性研究进展,以期为半红树植物黄槿及其内生菌的药用价值开发应用提供科学依据和参考。

关键词:黄槿;内生菌;多样性;代谢产物;药理活性

中图分类号:R931　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2021)2-0331-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.2.018

Research progress on endophytes from semi-mangrove plant *Hibiscus tiliaceus* and its metabolites

JIANG Yuan-ting[1], LIU Yang[1], CHEN De-li[2,3*], LIANG Han-qiao[1*]

[1]*Department of biomedicine, Beijing City University, Beijing* 100083, *China*;

[2]*Hainan Branch Institute of Medicinal Plant Development (Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine), Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Haikou 570311, China*;

[3]*Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China*

Abstract: *Hibiscus tiliaceus* (*Hibiscus* sp., Malvaceae), the semi-mangrove plant, located in the tropics. It possesses the effects in clearing heat and relieving cough, detoxifying and swelling. The same or similar structures as the host plants can be produced from *H. tiliaceus* endophytes, and its metabolites have novel active molecules. Currently, a variety of endophytic species have been isolated and identified, which included *Eurotium rubrum*, *Penicillium commune*, *Penicillium oxalicum*, *Fusarium* sp.. Pharmacological activities of metabolites from *H. tiliaceus* endophytes were summarized, and alkaloids, nucleoside compounds, anthraquinones, polysubstituted benzene compounds, triterpenoids, etc. have been obtained. Modern pharmacological studies show that the metabolites of *H. tiliaceus* endophytes have antibacterial, anti-tumor, anti-inflammation and other pharmacological activities. This paper reviews the research status of *H. tiliaceus* endophytes and its metabolic products and pharmacological activity in recent 20 years. This review also aims to provide scientific basis and reference for the development and application of the medicinal value of the semi-mangrove plant *H. tiliaceus*.

Key words: *Hibiscus tiliaceus*; endophyte; variety; metabolite; pharmacological activity

红树林植物是生长在热带及亚热带海岸潮间带的一类植物,受海水周期性浸淹的木本群落,具有很强的环境适应能力[1,2]。红树林是红树林生态系统的重要组成部分,覆盖了全世界 60% ~70% 的热带及亚热带海岸线,对抵御海浪、保护海岸,维护周边的生态平衡起到积极作用[3,4]。红树植物通常分为真红树植物和半红树植物这两种,前者只能出现在

收稿日期:2020-06-23　　接受日期:2020-09-11

基金项目:国家自然科学基金(81603387);北京城市学院科研发展基金(KYF202003);北京城市学院 2020 年度研究生科研创新项目(Yjscx202010)

*通信作者 Tel:86-10-62477531;E-mail:lhqbcsw@126.com, chendeli9999@163.com

天然产物研究与开发

潮间带,后者不仅能出现在河口潮间带,还能延伸进入到陆地生态系统,如黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)、海芒果(*Cerbera manghas*)、玉蕊(*Barringtonia racemosa*)、杨叶肖槿(*Thespeaisa populnea*)等[5-7]。黄槿(*H. tiliaceus*)为锦葵科(Malvaceae)木槿属(*Hibiscus*)泛热带的半红树植物[8,9]。黄槿在热带和亚热带的沿海及内陆都有分布,并且在太平洋群岛最多见,而在我国,黄槿主要分布在海南、广东、广西及福建等沿海省市[10,11]。黄槿不仅是优良树种,而且具有很高的经济及生态价值。其木材可以加工制作为工具,树皮纤维可用于制作绳,由于其根系发达,具有防风固沙的功能[12]。同时,黄槿的各部分还存在着潜在药用价值。

《全国中草药汇编》[13]中仅有收载黄槿(*H. tiliaceus*)和海芒果(*C. manghas*)两种半红树植物。其中黄槿的叶、树皮和花均有药用价值,其性甘、淡、微寒,且具有清热止咳、解毒消肿等功效[14]。在国外热带沿海地区,如巴西等地,也会将黄槿作为治疗高血压、发热、肝脏疾病的传统民间药物在使用[15]。根据现代药理学的研究,黄槿具有抗炎[16]、抗氧化[12]及抗肿瘤[17]等多种生物活性。半红树植物黄槿含有丰富多样的内生菌及代谢产物,综述相关的研究进展,有助于对黄槿及其内生菌的药效物质基础来源做出深入探究。

植物内生菌是指其生活史中某一阶段或整个阶段生活在生长健康的植物组织或细胞内,并对宿主植物没有引起明显病害症状的一类微生物群[18]。许多研究表明,植物内生菌会产生与宿主植物相同或相似的结构[19,20]。Xiao 等[21]采用高效液相色谱法测定人参培养须根及内生菌中 10 种人参皂苷单体的含量,结果 Rg_1、Re、Rb_1 的含量测定均符合 2010 版药典的要求。曼琼等[22]筛选出与宿主植物甘草具有相同或相似药理活性的甘草内生菌,并证实其对痰浊阻肺模型大鼠有较好的治疗效果。目前对于此项发现其中的原因提出了三种学说,虽然具体作用机制尚不明确,但都强调了植物内生菌的作用[23]。植物内生菌的次级代谢产物常用于进行微生物转化,目的是得到具有新颖结构的活性先导化合物[24]。目前已有众多报道,从植物内生菌中得到结构合理,活性更优的药物先导分子,这充分表明植物内生菌蕴藏巨大潜力[25-31]。从黄槿植物体中分离出能具有活性物质的内生菌,不仅可以为黄槿的药用资源开发利用进一步提供科学依据和有利参考,还可以为新药的发现提供先导化合物。该文就半红树植物黄槿内生菌的多样性、菌种鉴定、药理作用和活性成分进行了整理和综述,以期为黄槿内生菌的后续研究提供思路和参考。

1 黄槿内生菌的多样性和鉴定

1.1 黄槿内生菌的多样性

红树林是位于陆地海洋间的典型热带生态系统,生长环境特殊,具有强光照、强酸性、高含盐量和高温等特点,因此红树林拥有丰富的内生菌资源,是天然活性产物的有效来源[32-34]。黄槿作为宿主植物常用以研究红树林内生菌资源及其次级代谢产物。据文献报道表明,目前对内生菌的研究主要集中于内生真菌和放线菌,黄槿也同样不例外[35]。

2006 年,Lin 等[36]采集海南东寨港红树林保护区的黄槿,并且从其各个部位共分离得到 17 株黄槿内生真菌,各部位菌株的数量分别为根 5 株、茎 6 株、叶 3 株、树皮 3 株。其中已鉴定的 3 株黄槿内生菌菌株为镰刀菌属(*Fusarium* sp.)真菌,部位都在根部。镰刀属也同样为研究较为广泛的内生真菌类群,已发现存在镰刀菌属内生真菌的药用植物有银杏[37]、红茄苳[38]及龙牙草[39]等。2007 年,Li 等[40]从海南半红树植物黄槿的叶片中分离得到了菌株 GT20036029,并对该菌株的代谢产物进行了化学成分分析,具体菌种的鉴定结果目前仍未可知。Liu 等[41]采集来自海南省文昌的红树林半红树植物黄槿,并从其根部分离得到菌株,经鉴定为草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)。2008 年,Li 等[42]从海南黄槿中分离得到内生真菌赤散囊菌(*Eurotium rubrum*)。2010 年,Yan 等[43]从我国海南的半红树植物黄槿的枝条上分离出内生真菌赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)和内生真菌团青霉(*Penicillium commune*)。散囊菌属(*Eurotium*)真菌属于子囊菌纲(Ascomycetes)散囊菌目(Eurotiales)散囊菌科(Eurotiaceae)真菌,在自然界经常可见的是它们的无性阶段,如常见的曲霉属(*Aspergillus* sp.)和青霉属(*Penicillium* sp.)。Yan 等[43]对同样来源于黄槿枝条的内生真菌团青霉(*Penicillium commune*)也进行了研究。青霉属(*Penicillium*)真菌属于半知菌门(Deuteromycotina)丝孢纲(Hyphomycetes)丝孢目(Hyphomycetales)丝孢科(Hyphomycetales)真菌。青霉属是植物内生菌种研究较多的内生真菌类群之一,在具有药用价值的植物内生菌中发现有青霉属内生真菌,如药用植物番红花[44]、水飞蓟[45]等。2012 年,Li 等[46]从广西半红树植物如杨叶肖槿、黄

槿等 12 个样品中,分离出纯化的菌株总计 86 株,其中从黄槿中分离得到了一株内生真菌 *Penicillium* sp. LD-68。Du 等[47]从海南东寨港采集的海洋红树林植物黄槿中分离出一株内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198。

放线菌主要是分布在土壤中,且以链霉菌、小单孢菌及游动放线菌为主。Li [48]从海南红树林自然保护区中采集黄槿,并且将黄槿的根际土壤、根部、茎部、叶部分别作为样品进行研究。由于放线菌在自然界中主要栖息的地方是土壤,因此从黄槿的根际土壤样本中分离得到的放线菌的数量和种类数相对较多,共分离出 73 种放线菌,包括链霉菌属、原小单孢菌属、小单孢菌属、诺卡氏菌属等共 4 个属。从黄槿根部分离出 63 种放线菌,其中的优势菌群同样是链霉菌。从黄槿茎部和叶部分别分离出 27 种和 19 种放线菌,其中茎部放线菌包括链霉菌、诺卡氏菌属,叶部分离出的放线菌中包括链霉菌属、小单孢菌属和束村氏菌属。在研究中,黄槿相较于同为红树林植物的海漆和秋菊,黄槿的植株体生长环境最为放线菌所偏好。目前对植物内生菌中内生放线菌的研究也同样较为集中,不仅是黄槿,还有雷公藤[49,50]、秋茄树[51]、益智[52]等药用植物中都发现有链霉菌或诺卡氏菌属。

1.2 黄槿内生菌鉴定

内生菌的鉴定方法主要包括外观形态学鉴定、生理生化水平鉴定以及分子生物学鉴定等。黄槿内生菌的鉴定:首先结合《常见细菌系统鉴定手册》[53]、《真菌鉴定手册》[54]等,观察并记录内生菌菌落的大小、生长速度、颜色、气生菌丝形态等特征,并且利用光学显微镜观察菌丝颜色、有无产孢、孢子形态、有无横隔等微观特征,进行形态学的初步鉴定[55];之后进行生理生化鉴定(包括碳氮源利用能力、酶反应和血清学反应等)[56];最后是进行分子生物学鉴定。Yan 等[43]通过克隆真菌核糖体 rDNA 基因转录间隔序列(ITS1-5.8S-ITS2 全长序列)测序并与 Genbank 中已知真菌菌株相应序列比对结果鉴定出内生真菌赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)以及内生真菌团青霉(*Penicillium commune*)。2012 年,Li[48]将三株放线菌的 16S rDNA 序列在 Ez Txon 上进行 BLAST 比对,应用 N-J 法构建其系统发育树确定三株放线菌的系统发育地位,从而初步鉴定菌种。

2 黄槿内生菌次级代谢产物活性成分

2.1 生物碱类化合物

Li 等[40]从黄槿内生真菌 GT 20036029 中分离得到 1 个生物碱类化合物,其化学结构为 *N*-(2-羟基苯乙基)乙酰胺(**1**)。Li 等[57]从黄槿内生真菌赤散囊菌的菌丝体及发酵液中分离出 14 个含吲哚的二酮哌嗪生物碱类化合物。其中有两个新的生物碱类化合物,分别是(cyclo-*L*-alanyl-4,5-diisopentenyl-2-(1′,1′-dimethylallyl)-8-(*Z*)-ene-tryptophan)(**2**)、(cyclo-*L*-alanyl-5,7-diisopentenyl-2-(1′,1′-dimethylallyl)-8-(*Z*)-ene-tryptophan)(**3**)。Yan 等[43]通过固体发酵培养从黄槿赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)的提取物中鉴定出 18 个含吲哚的二酮哌嗪生物碱类化合物(**2** ~ **19**),其中化合物 **12** 确定为新化合物,命名为 12-nor-12-oxo-eurotechinulin B。并且从黄槿团青霉的提取物中鉴定出 2 个吲哚类生物碱,分别为化合物 3-(3-indolyl)-2-(*N*-acetyl)-propanoic acid(**20**)和化合物(3-indolylacetic acid methyl ester)(**21**)。Du 等[47]利用多种分离手段从黄槿内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198 的发酵液中分离出 2 个生物碱类化合物,分别是 *N*-[2-(4-吲哚)乙基]乙酰胺(**22**)和 *N*-[2-(4-对羟基苯酚)乙基]乙酰胺(**23**)。化合物 **22** 和 **23** 分别命名为 dehydrovariecolorin L 和 dehydroechinulin。化合物 **1** ~ **23** 的结构见图 1。

2.2 环二肽与核苷类化合物

Li 等[40]利用多种色谱技术从黄槿内生真菌 GT 20036029 中分离得到 5 个核苷类化合物。分别为环(*L*-脯氨酸-*D*-异亮氨酸)(**24**)、环(*L*-亮氨酸-*L*-脯氨酸)(**25**)、环(*D*-亮氨酸-*L*-脯氨酸)(**26**)、环(亮氨酸-酪氨酸)(**27**)、环(苯丙氨酸-丝氨酸)(**28**)。Yan 等[43]从黄槿内生真菌团青霉的提取物中分离得到多种结构的化合物,其中有 3 个属于核苷类化合物,分别为尿嘧啶-2′-脱氧核苷(thymidine)(**29**)、尿嘧啶(uracil)(**30**)、胸腺嘧啶(thymine)(**31**)。Du 等[47]利用乙酸乙酯萃取黄槿内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198 的发酵液,采用硅胶柱层析、葡聚糖凝胶柱层析以及制备薄层层析等手段分离确定了 6 个核苷类化合物的结构。分别是环-(*S*-脯氨酸-*S*-苯丙氨酸)(**32**)、环-(*S*-脯氨酸-*S*-亮氨酸)(**33**)、环-(*S*-苯丙氨酸-*S*-色氨酸)(**34**)、胸腺嘧啶脱氧核苷(**35**)、尿嘧啶脱氧核苷(**36**)、尿嘧啶核苷(**37**)。其中化合物 **32** 和 **33** 为首次从黄槿内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198 中提取分离。Liu 等[41]从黄槿内生菌草酸青霉(092007)菌菌丝体的丙酮提取物中

天然产物研究与开发

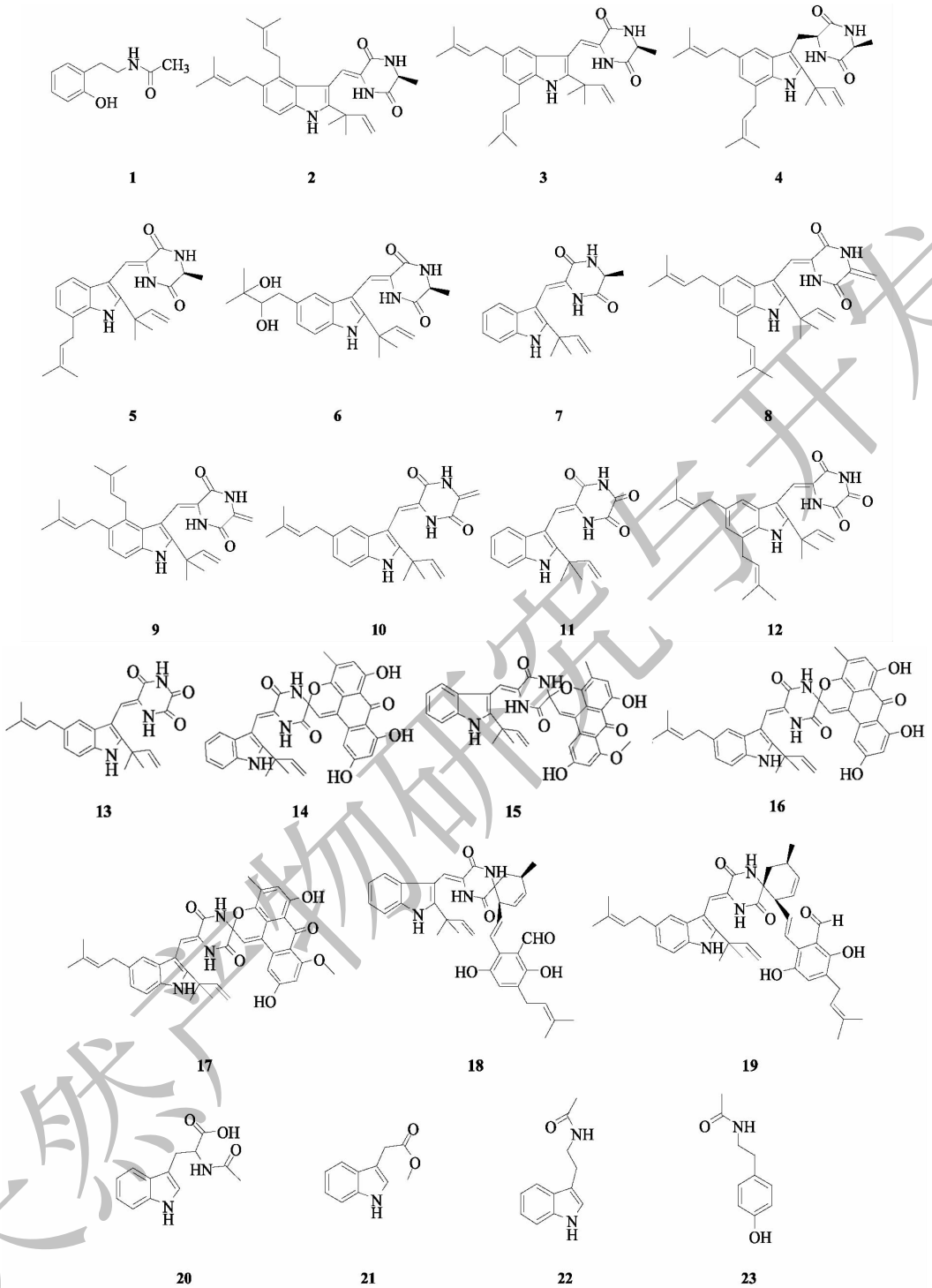

图 1 黄槿内生菌中生物碱类化合物的结构

Fig. 1 Structures of alkaloids in *H. tiliaceus* endophytes

分离得到 6 个环二肽类化合物，利用多种波谱技术确定其结构分别为：环(苯丙异亮)二肽(**38**)、环(苯丙-缬)二肽(**39**)、环(异亮-亮)二肽(**40**)、环(缬-缬)二肽(**41**)、环(脯-缬)二肽(**42**)、环(脯-甘)二肽(**43**)。化合物 **24 ~ 43** 的结构见图 2。

2.3 蒽醌类化合物

Yan 等[43] 从黄槿赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)的提取物中鉴定出 11 个蒽醌类化合物(**44 ~ 54**)。其结构分别为：questin(**44**)、emodin(**45**)、citreorosein(**46**)、emodic acid(**47**)、erythroglaucin(**48**)、

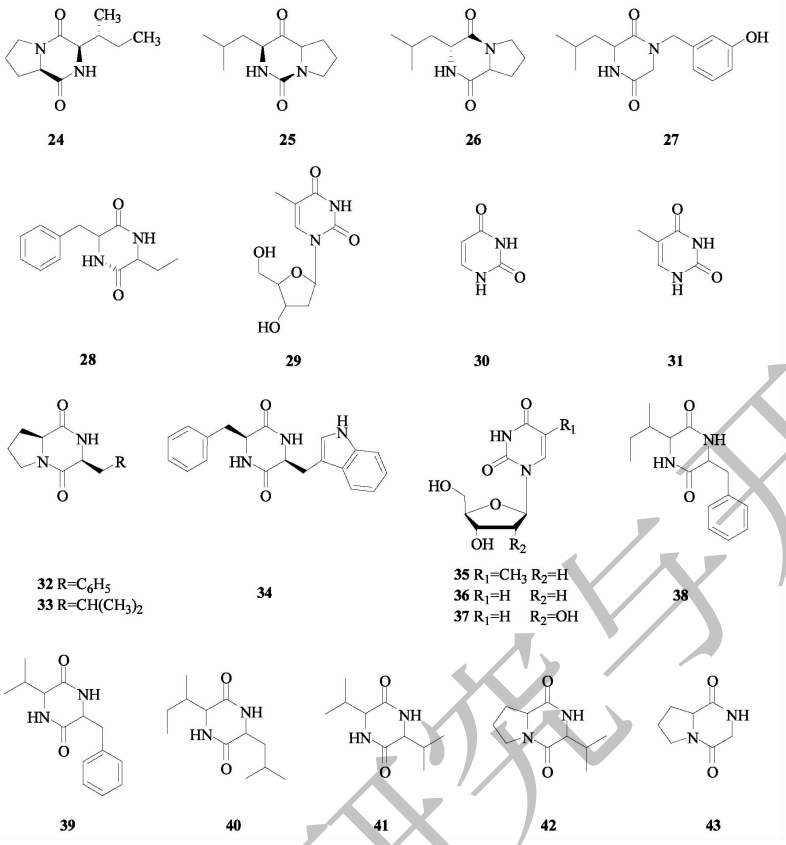

图 2 黄槿内生菌中环二肽与核苷类化合物的结构

Fig. **2** Structures of cyclic dipeptides and nucleoside compounds in *H. tiliaceus* endophytes

catenarin(**49**)、physcion(**50**)、asperflavin(**51**)、2-*O*-methyl-9-dehydroxyeurotinone(**53**)、2-*O*-methyleurotinone(**53**)、9-dehydroxyeurotinone(**54**)。其中化合物 **54** 为新化合物。化合物 **44 ~ 54** 的结构见图 3。

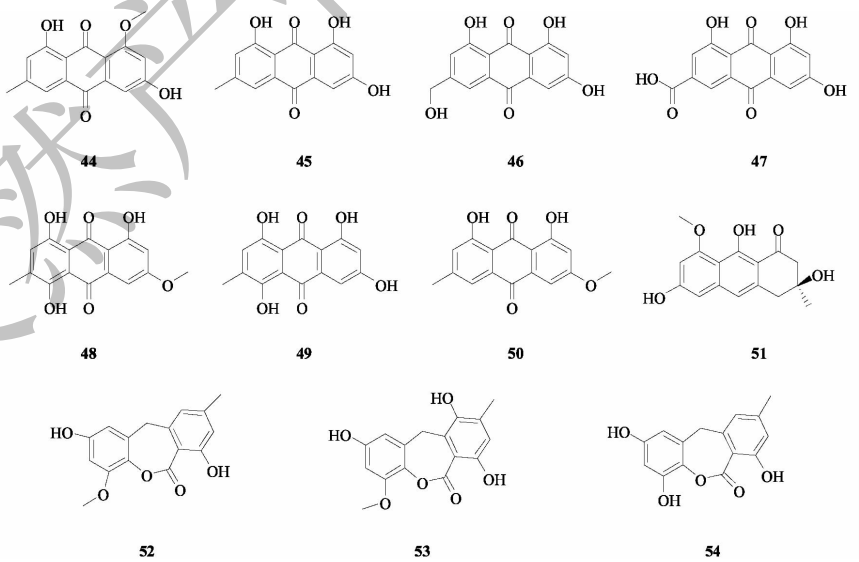

图 3 黄槿内生菌中蒽醌类化合物的结构

Fig. 3 Structures of anthraquinones in *H. tiliaceus* endophytes

天然产物研究与开发

2.4 多取代苯类化合物

Yan 等[43]从黄槿赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)提取物中鉴定出 1 个多取代苯类化合物(**55**),确定其结构为 isodihydroauroglaucin。并且从黄槿团青霉的提取物中鉴定出 2 个多取代苯类化合物,分别为 2′, 4′-dihydroxy-3′, 5′-dimethylacetophenone(**56**)和 2,5-dihydroxybenzeneacetic acid(**57**)。Li 等[58]从来源于海南半红树植物黄槿的内生真菌赤散囊菌(*Eurotium rubrum*)的菌丝体及发酵液的提取物中分离并鉴定了 6 个苯甲醛类衍生物的结构。分别为(*E*)-6-hydroxy-7-(3-methyl-2-butenyl)-2-(3-oxobut-1-enyl) chroman-5-carbaldehyde(**58**)、2-(1′, 5′-heptadienyl)-3, 6-dihydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl)benzaldehyde(**59**)、isotetrahydroauroglaucin(**60**)、isodihydroauroglaucin(**61**)、2-(2′,3-epoxy-1′,3′-heptadienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl) benzaldehyde(**62**)、2-(2′,3-epoxy-1′,3′,5′-heptatrienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl) benzaldehyde(**63**)。其中化合物 **58** 和 **59** 为新化合物。化合物 **55** ~ **63** 的结构见图 4。

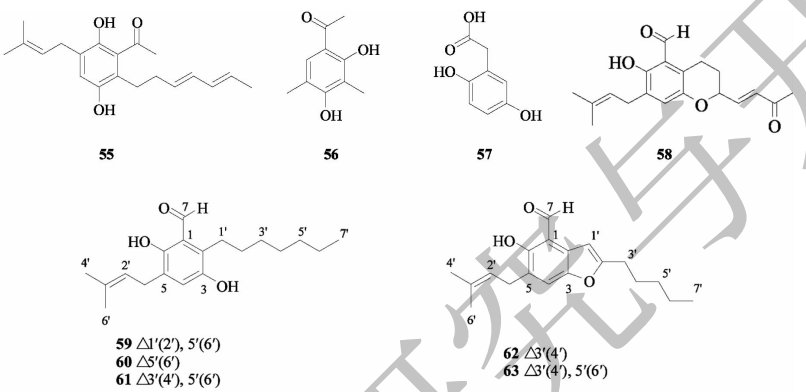

图 4 黄槿内生菌中多取代类化合物的结构

Fig. 4 Structures of polysubstituted benzene compounds in *H. tiliaceus* endophytes

2.5 三萜类化合物

Li 等[40]利用多种色谱技术从黄槿内生真菌 GT 20036029 中分离得到 2 个三萜类化合物,分别为(25*S*)纽替皂苷元-3-*O*-*α*-*L* 鼠李糖-(1→2)-*β*-*D* 葡萄糖苷(**64**)和(25*S*)异纽替皂苷元-3-*O*-*α*-*L* 鼠李糖-(1→2)*β*-D 葡萄糖苷(**65**)。Yan 等[43]从黄槿赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)的提取物中鉴定出 1 个三萜类化合物,确定其化学结构为 zeorin(**66**)。并且从黄槿团青霉的提取物中鉴定出 4 个三萜类化合物(**67** ~ **70**),分别为麦角甾醇((22*E*,24*R*)-ergosta-5, 7, 22-trien-3*β*-ol)(**67**)、fumigaclavines A 和 B(**68**)、penitrem A and roquefortine(**69**)和啤酒甾醇((22*E*, 24*R*)-ergosta-7, 22-dien-3*β*, 5*α*, 6*β*-triol)(**70**)。Du 等[47]从黄槿内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198 的发酵液中分离出 2 个三萜类化合物,分别为过氧化麦角甾醇(**71**)和麦角甾醇(**72**)。化合物 **64** ~ **72** 的结构见图 5。

2.6 其他类化合物

Du 等[47]从黄槿内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198 中分离出 1 个萜类化合物为(1*S*)-1-(4′-间羟基苯甲酸)-1,1,5,5-二甲基己二醇(**73**),以及 2 个酰胺类化合物分别为(2*S*,2′*R*,3*R*,3′*E*,4*E*,8*E*)-*N*-(2′-羟基-3′-十六烯酰基)-9-甲基-4,8-二十碳二烯-1,3-二醇(**74**)和 1-*O*-*β*-*D*-葡萄糖基-(2*S*,2′*R*,3*R*,3′*E*,4*E*,8*E*)-*N*-(2′-羟基-3′-十六烯酰基)-9-甲基-4,8-二十碳二烯-1,3-二醇(**75**)。Li 等[46]采用溶剂萃取? 柱色谱层析及制备 HPLC 等方法对 1 株分离自广西红树林植物黄槿的内生真菌 *Penicillium* sp. LD-68 菌株发酵产物进行化学结构鉴定。分离得到 5 个苯并多元环类化合物,其结构分别鉴定为 curvularin(**76**)、dehydrocurvularin(**77**)、11-*β*-hydroxy-12-oxocurvularin(**78**)、11-*β*-hydroxycurvularin(**79**)和 11-*α*-hydroxycurvularin(**80**)。Li 等[40]利用多种色谱技术从半红树植物黄槿内生真菌 GT 20036029 中分离得到 1 个皂苷类化合物,为脑苷脂 B(**81**)。Yan 等[43]从黄槿团青霉的提取物中鉴定出 3 个其他类型化合物(**82** ~ **84**),分别为 1-*O*-(2,4-dihydroxy-6-methylbenzoyl)-glycerol(**82**)、1-*O*-acetyl-glycerol(**83**)和(4*R*, 5*S*)-5-hydroxyhexan-4-olide(**84**),其中化合物 **82** 为新化合物。化合物 **73** ~ **84**

的结构见图 6。

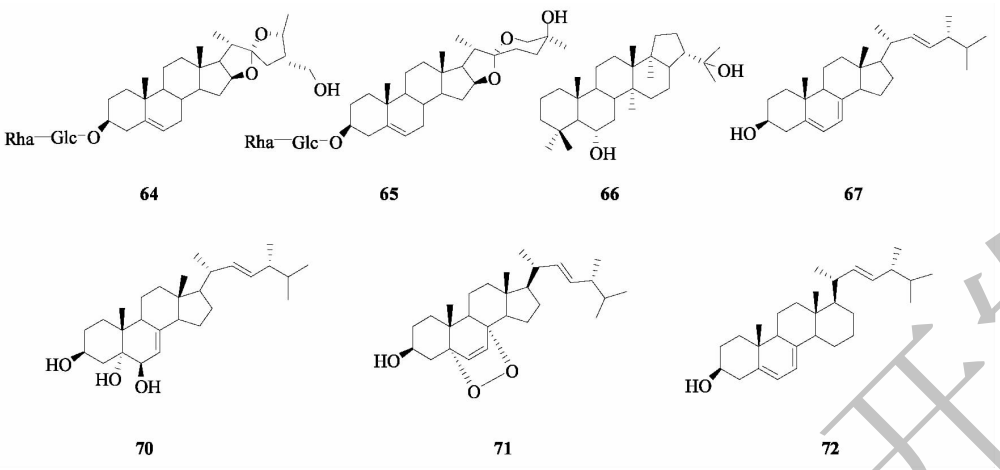

图 5 黄槿内生菌中三萜类化合物的结构

Fig. 5 Structures of triterpenoids in *H. tiliaceus* endophytes

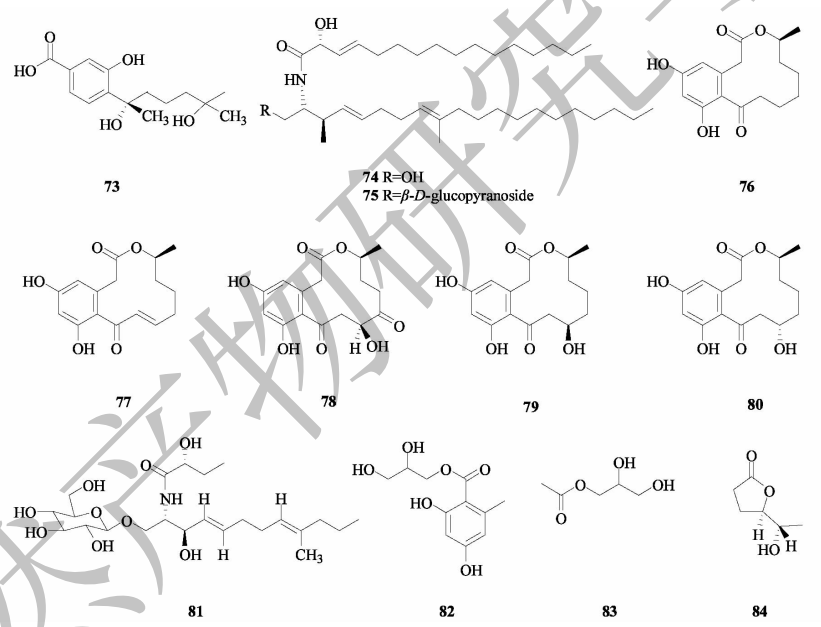

图 6 黄槿内生菌中其他类化合物的结构

Fig. 6 Structures of other compounds in *H. tiliaceus* endophytes

3 药理作用

3.1 抗菌作用

黄槿具有抗炎的药理作用[10],且黄槿内生菌会产生与黄槿相同或相似的结构,因此对于黄槿内生菌代谢产物抗菌活性的研究具有意义。Du 等[47]从海南东寨港的海洋红树林植物黄槿叶中分离到的一株内生真菌 *Aspergillus sydowii* EN-198,利用多种分离手段从发酵液中分离得到 14 个化合物,以金黄色葡萄球菌为供试菌株,利用滤纸片扩散法测试了所有化合物的抑菌活性。其中发现曲酸表现出较好的抑制活性,在加样量为 100 μg/碟时,抑菌圈直径为 10 mm,阳性对照抑菌圈直径为 22 mm。根据 Li[59]的研究表明,曲酸对大肠杆菌也具有良好的抑菌效果,且热稳定性强。同时,化合物 **23** 也表现出一定的抑制活性,该化合物的抑菌活性为首次报道。Yan 等[43]对黄槿内生真菌赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)次级代谢产物的生物活性研究中,发现在抗菌活性测试中化合物 **54** 对大肠杆菌表现出一

天然产物研究与开发

定的抗菌活性。根据 Bi 等[60]研究,化合物 **45** 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有显著的抑制作用。在 Wakuliński [61]的实验中,化合物 **49** 也同样表现出抗菌活性。Lin 等[36]采用琼脂块法对分离出的黄槿内生真菌进行抑菌实验,实验结果表明分离出的 17 株黄槿内生菌具有抗菌活性,其中有 4 株对至少一种微生物具有抗菌活性。

3.2 抗肿瘤作用

据现有研究结果,在红树林植物内生真菌的次级代谢产物中,经常能发现具有抑制肿瘤的药理作用,并且有些化合物的抗肿瘤活性较强,有望能开发为新的抗肿瘤药物[62,63]。黄槿作为半红树林植物,近年来有许多研究人员从其代谢产物中发现具有良好的抗肿瘤活性,以期可以为新型药物研发提供前体化合物。Li 等[46]从广西黄槿中分离得到一株内生真菌 *Penicillium* sp. LD-68,以其作为供试菌种对其次级代谢产物以及其生物活性进行研究。通过采用溶剂萃取、柱色谱层析及制备液相色谱等方法对菌株发酵产物进行分离,得到 5 个弯孢霉菌素类化合物。利用 SRB 和 MTT 法评价化合物的抗肿瘤活性,以 A549、Hela、BEL-7402、K562 这 4 种人肿瘤细胞株作为指示细胞。经实验表明,化合物 **76 ~ 80** 对 4 种指示细胞具有不同程度的抑制作用。其中化合物 **77 ~ 80** 对 Hela 细胞生长具有显著抑制作用,表现出较好的抗肿瘤活性。并且化合物 **77 ~ 80** 对 4 种肿瘤细胞系的细胞毒活性为首次发现。Liu 等[41]从草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)菌丝体的丙酮提取物中分离得到 6 个环二肽类化合物,并且用 MTT 法评价各化合物对肝癌细胞 HepG-2 和前列腺癌细胞 LNCaP 生长的抑制作用。其中化合物 **39**、**40** 和 **42** 在 50 μg/mL 下对肝癌细胞 HepG-2 的抑制率分别为 31%、32%、17%,对前列腺癌细胞 LNCaP 抑制率分别为 50%、43%、53%,具有一定的细胞毒活性。Li 等[40]从海南半红树林植物黄槿中分离得到内生菌真菌 GT 20036029,并且应用多种色谱技术从中分离得到 9 个化合物。其中化合物 **64** 显示出较好的肿瘤细胞抑制活性。在对其进行肿瘤细胞生长抑制活性筛选中发现,螺环部分的结构可能为其活性官能团。Yan 等[43]在对黄槿内生真菌赤散囊菌(*Eurotium rubrum* G2)代谢产物的研究中,鉴定了 32 个化合物的结构式,苯甲醛类化合物、蒽醌类化合物、含吲哚的二酮哌嗪生物碱类化合物这三类化合物是赤散囊菌代谢产物的主要结构类型。其中化合物 **14** 对人肝癌细胞 SMMC-7721、化合物 **55** 对人胰腺胆管癌细胞 sw1990 和人前列腺癌细胞 Du145 表现出较强的抑制活性(IC_{50} 分别为 11、10、15 μg/mL)。在 Wang 等[64]的研究中,化合物 **14 ~ 16** 表现出较弱的细胞毒活性及抗氧化活性。根据 Zhang 等[65]的研究,化合物 **56** 在体外实验中可对多种植物病原真菌表现出抑制活性。Li [48]使用“杯碟法”对分离出的放线菌进行嗜杀酵母系统模型初蹄,结果分离出的 184 株黄槿共附生的放线菌中有 155 株显示了对酵母嗜杀系统的抑制作用。在随后的细胞毒活性的检测中,结果显示其中 87 株黄槿的共附生放线菌有强的细胞毒活性。对酵母嗜杀系统的抗性较强的菌主要分布在黄槿的根际土壤及其根部,其中分离自黄槿根部的 2 株放线菌活性强于利巴韦林阳性对照(82%)。结果表明黄槿土壤中分离出的活性放线菌数量最多,根部次之,茎部最少。

4 小结

半红树植物黄槿,是在潮间带生存的两栖木本植物,有重要的生态功能。由于其生长环境具有高盐、强光照、缺氧等特点,使得黄槿生境适应性独特,既可在海滩上成为优势树种,又能在陆地环境自然繁殖。这一特点造就了黄槿内生菌特殊的代谢途径,使其成为新型天然产物的来源之一。当前,由于抗菌药物滥用,使得致病菌耐药性增强等问题频频出现[66,67],抗肿瘤药物由于癌症治疗理念的升级,也同样亟待新型天然药物的开发利用[68]。现代药物的 30% ~60% 与天然产物相关,通过对天然产物的改造和利用是新药开发的重要手段之一[69,70]。但是从普通的微生物资源中难以得到结构新颖的新骨架化合物,因此药用植物内生菌以及海洋产物逐步引发关注。根据 Schafhauser 等[71]研究,中药紫菀中具有抗肿瘤活性的环肽 astins,是由其内生真菌 *Cyanodermella asteris* 通过非核糖体途径合成的主要骨架。此发现有助于该化合物更好地生产研发,同时也证明了药用植物内生菌及其次级代谢产物的研究价值。另有研究,从海洋曲霉天然产物 *Aspergillus* sp. CNC-139 中衍生出血管阻断剂 plinobulin(NPI-2358),用以治疗转移性的晚期非小细胞肺癌[72]。由此根据黄槿内生菌及其代谢产物具有抗菌、抗肿瘤等活性的现有报道,有望将其中结构新颖,特异性强,具有显著药用的活性分子,与基因组学、分子生物学等技术结合创制新药。

参考文献

1 Tomlinson PB. The Botany of Mangroves[M]. London:Cambridge University Press,1986.

2 Wang BS,et al. Interpretation of mangrove plants[J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni(中山大学学报:自科版),2003,42(3):42-46.

3 Holguin G,et al. The role of sediment microorganisms in the productivity,conservation,and rehabilitation of mangrove ecosystems:an overview[J]. Biol Fert Soils,2001,33:265-278.

4 Williams N. Tsunami insight to mangrove value[J]. Curr Biol,2005,15(3):73.

5 Cai SH,et al. Gas exchange characteristics in the mangrove associate *Hibiscus tiliaceus*[J]. Guihaia(广西植物),2016,36(4):22-29.

6 Guo JM,et al. Chemical constituents from stems and leaves of semi-mangrove plant,*Barringtonia racemosa*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2019,50:5690-5695.

7 Megha KB,et al. Preliminary screening of phytochemicals and antiproliferative and anti-inflammatory properties of *Thespesia populnea*(L.) Soland leaf extracts[J]. Asian J Pharm Clin Res,2018,11:382-386.

8 Zheng WJ. Tree Records of China:Vol Ⅲ(中国树木志:第3卷)[M]. Beijing:China Forestry Publishing,1997.

9 Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences. Iconographia Cormophytorum Sinicorum:Vol Ⅱ(中国高等植物图鉴:第2册)[M]. Beijing:Science Press,1972.

10 Zhang XP,et al. Research progress in chemical constituents of *Hibiscus tillisceus* and their pharmacological activities[J]. Mod Drugs Clin(现代药物与临床),2011,26(6):28-32.

11 Tan YF,et al. A preliminary study on the anti-inflammatory active parts of *Hibiscus tiliaceus*[J]. Chin Med Guide(中国医药指南),2012,10(27):77-78.

12 Wong SK,et al. Antioxidant properties of coastal and inland populations of *Hibiscus tiliaceus*[J]. ISME/GLOMIS Electron J,2010,8(1):1-2.

13 National Chinese Herbal Medicine Compilation Group. National Compilation of Chinese Herbal Medicine:Vol Ⅱ(全国中草药汇编下册)[M]. Beijing:People's Medical Publishing House,1996:757.

14 Wang ZZ. Studies on the chemical constituents and bioactivities of semi-mangrove plant *Hibiscus tillisceus*[D]. Qindao:Ocean University of China(中国海洋大学),2009.

15 Vanzella C,et al. Antidepressant-like effects of methanol extract of *Hibiscus tiliaceus* flowers in mice[J]. BMC Complement Altern Med,2012,12(1):41.

16 Abdul-awal SM,et al. Evaluation of pharmacological activity of *Hibiscus tiliaceus*[J]. SpringerPlus,2016,5:1209.

17 Sunilson AJ,et al. Antitumour activity of *Hibiscus tiliaceus* Linn. roots[J]. Iran J Pharmacol Ther,2008,7(1):123-125.

18 Strobel G,et al. Taxomyces andreanae,a proposed new taxon for a bulbilliferous hyphomycete associated with Pacific yew(*Taxus Brevifolia*)[J]. Mycotaxon,1993,47(71):71-80.

19 Amna T,et al. Bioreactor studies on the endophytic fungus *Entrophospora infrequens* for the production of an anticancer alkaloid camptothecin[J]. Can J Microbiol,2006,52:189-196.

20 Zhao N,et al. Research progress on the interaction between medicinal plant endophytes and their host plants[J]. J Gansu Univ Chin Med(甘肃中医药大学学报),2016,33(5):71-74.

21 Xiao D,et al. Determination of ginsenosides in ginseng cultivation fibrous and endophytes by HPLC method[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2014,42:5418-5421.

22 Man Q,et al. Comparative study on the intervention effects of endophytic bacteria isolated from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on rats with phlegm turbidity obstructing in the lung[J]. Chin J Mod Appl Pharm,2017,34:161-165.

23 Jia LW,et al. Research progress on metabolites of plant endophytic fungi[J]. Inf Tradit Chin Med(中医药信息),2019,36(2):103-108.

24 Fraga BM,et al. Biotransformation of the diterpenes epicandicandiol and candicandiol by *Mucor plumbeus*[J]. J Nat Prod,2003,66:327-331.

25 Sato H,et al. Computational studies on biosynthetic carbocation rearrangements leading to quiannulatene:initial conformation regulates biosynthetic route, stereochemistry, and skeleton type[J]. Angew Chem,2018,57:14752-14757.

26 Wang G,et al. Biosynthetic pathway for furanosteroid demethoxyviridin and identification of an unusual pregnane side-chain cleavage[J]. Nat Commun,2018,9(1):1838.

27 Lardon N,et al. The furan shuffling hypothesis:a biogenetic proposal for eremophilane sesquiterpenoids[J]. Angew Chem,2019,58:7004-7007.

28 Murai K,et al. An unusual skeletal rearrangement in the biosynthesis of the sesquiterpene trichobrasilenol from *Trichoderma*[J]. Angew Chem,2019,58:15046-15050.

29 Wang Y, et al. Bioinspired synthesis of nortriterpenoid propindilactone G.[J]. J Am Chem Soc,2020,142:5007-5012.

30 Siemon T,et al. Semisynthesis of plant-derived englerin a enabled by microbe engineering of guaia-6,10(14)-diene as

building block[J]. J Am Chem Soc,2020,142:2760-2765.
31 Zi J,et al. Biosynthesis of lycosantalonol,a cis-prenyl derived diterpenoid[J]. J Am Chem Soc,2014,136:16951-16953.
32 Souza Sebastianes FL,et al. Diversity and biotechnological potential of endophytic microorganisms associated with tropical mangrove forests[M]. [S. l.]: Springer International Publishing,2017.
33 Martinho V,et al. Enzymatic potential and biosurfactant production by endophytic fungi from mangrove forest in southeastern Brazil[J]. AMB Express,2019,9:130.
34 Kemung HM,et al. Antioxidant activities of *Streptomyces* sp. strain MUSC 14 from mangrove forest soil in Malaysia[J]. BioMed Res Int,2020:6402607.
35 Jin J,et al. Research progress on bioactive products from endophytes[J]. J Microbiol(微生物学杂志),2018,38(3):103-113.
36 Lin AY,et al. Study on isolation of endophytic fungi from four medicinal semi-mangrove plants and its antimicrobial activity [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2006,41:892-894.
37 Cui Y,et al. Ginkgolide B produced endophytic fungus(*Fusarium oxysporum*) isolated from *Ginkgo biloba*[J]. Fitoterapia,2012,83:913-920.
38 Shiono Y,et al. A new α-pyrone metabolite from a mangrove plant endophytic fungus,*Fusarium* sp.[J]. J Asian Nat Prod Res,2015,17:403-408.
39 Shan W,et al. Sesquiterpenoids from *Fusarium* sp.,an endophytic fungus in *Agriminia pilosa*[J]. Helv Chim Acta,2011,94:1254-1259.
40 Li LY,et al. Metabolites of endophytic fungus GT20036029 isolated from the mangrove plant *Hibiscus tillisceus*[J]. Nat Prod Res(天然产物研究与开发),2007,19:956-959.
41 Liu HB,et al. Cyclic dipeptides from the mangrove fungus *Penicillium oxalicum*(092007)[J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报),2007,24:474-478.
42 Li DL. Secondary metabolites and their bioactivities of a *Hibiscus tiliaceus*-derived endophytic fungus *Eurotium rubrum* and a mangrove plant *Rhizophora stylosa* Griff.[D]. Beijing: Institute of Oceanology,Chinese Academy of Sciences(中国科学院研究生院海洋研究所),2008.
43 Yan HJ. Chemical constituents of two endophytes derived from semi-mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*[D]. Beijing: Institute of Oceanology,Chinese Academy of Sciences(中国科学院研究生院海洋研究所),2010.
44 Cheng J,et al. Identification of a quinazoline alkaloid produced by *Penicillium vinaceum*,an endophytic fungus from *Crocus sativus*[J]. Pharm Biol,2011,50:129-133.
45 Raja,et al. Pannorin B,a new naphthopyrone from an endophytic fungal isolate of *Penicillium* sp.[J]. Magn Reson Chem,2016,54:164-167.
46 Li D,et al. Secondary metabolites and their bioactivities of *Hibiscus tiliaceus* L. endophytic fungi[J]. Chin J Mar Drugs(中国海洋药物),2012,31(6):21-26.
47 Du FY,et al. Study on chemical constituents of marine mangrove plant *Hibiscus tiliaceus* endophytic fungus *Aspergillus sydowii* EN-198[J]. Mar Sci(海洋科学),2012,36(12):8-13.
48 Li Y. Isolation and screening anti-viral actinomycetes from three mangrove[D]. Hainan: Hainan University(海南大学),2012.
49 Miao GP,et al. Effects of plant stress signal molecules on the production of wilforgine in an endophytic actinomycete isolated from *Tripterygium wilfordii* Hook. f.[J]. Curr Microbiol,2015,70(4):571.
50 Li W,et al. A new natural nucleotide and other antibacterial metabolites from an endophytic *Nocardia* sp.[J]. Nat Prod Res,2014,29(2):1-5.
51 Ding L,et al. A family of multicyclic indolosesquiterpenes from a bacterial endophyte[J]. Org Biomol Chem,2011,9:4029-4031.
52 Hao Z,et al. Metabolites of *Streptomyces* sp.,an endophytic actinomycete from *Alpinia oxyphylla*[J]. Nat Prod Res,2014,28:265-267.
53 Dong XZ,et al. Manual for Identification of Common Bacterial Systems(常见细菌系统鉴定手册)[M]. Beijing: Science Press,2001:340-385.
54 Wei JC. Manual of Fungal Identification(真菌鉴定手册)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific Technical Publishers,1979:2.
55 Yang ZJ,et al. Identification and determination of total flavonoids and total saponins contens in endophytes from *Glycyrrhiza uralensis*[J]. Pharm Chin PLA(解放军药学学报),2018,34:337-340.
56 Kang HY,et al. Isolation and identification of two plant-growth promoting endophytes from alfalfa[J]. Microbiol China(微生物学通报),2015,42:280-288.
57 Li DL,et al. Study on the alkaloid secondary metabolites of *Hibiscus tiliaceus* endophytic fungus *Eurotium rubrum*[C]. 2008 Proceedings of the National Symposium on Medicinal Fungin(2008 全国药用真菌学术研讨会论文集),2008:138-142.
58 Li DL,et al. Study on the benzaldehyde secondary metabolites of *Hibiscus tiliaceus* endophytic fungus *Eurotium rubrum*[C]. Proceedings of the fourth Congress of the Chinese Society of Fungi and the Seventh National Symposium on Bacteri-

天然产物研究与开发

ology(中国菌物学会第四届会员代表大会暨全国第七届菌物学学术讨论会论文集),2008:265-268.
59 Li FM. Studies on the inhibition of kojic acid on escherichia coli and staphylococcus aureus[J]. Food Res Dev(食品研究与开发),2008,151(6):190-192.
60 Bi Y,et al. Antibacterial mechanism of emodin on methicillin staphyloccocusn aureus[J]. Chin J Biol Pharm(中国生化药物杂志),2015,35(8):33-36.
61 Wakulinski W, et al. Catenarin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*(Died.) Drechsler and its antimicrobial activity[J]. J Phytopathol,2003,151(2):74-79.
62 Li CY,et al. Research progress on inhibiting tumor cell activity metabolites by mangrove endophytic fungus[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2012,40:702-705.
63 Wang LW,et al. Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant *Arisaema erubescens*[J]. Appl Microbiol Biot,2012,93:1231-1239.
64 Wang WL,et al. Three novel,structurally unique spirocyclic alkaloids from the halotolerant B-17 fungal strain of *Aspergillus variecolor*[J]. Chem Biodivers,2007,4:2913-2919.
65 Zhang CL,et al. Clavatol and patulin formation as the antagonistic principle of *Aspergillus clavatonanicus*, an endophytic fungus of *Taxus mairei*[J]. Appl Microbiol Biot,2008,78:833-840.
66 Brown ED,et al. Antibacterial drug discovery in the resistance era[J]. Nature,2016,529:336-343.
67 Fisher MC,et al. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security[J]. Science,2018,360:739-742.
68 Yi J, et al. Research advancement in natural anti-cancer product[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2019,44(1):19-27.
69 Guo Q,et al. Progress in research on natural products as antibiotic adjuvant combined with antibacterial[J]. Food Sci(食品科学),2020,41(23):255-265.
70 Newman DJ,et al. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019[J]. J Nat Prod,2020,83:770-803.
71 Schafhauser T,et al. Antitumor astins originate from the fungal endophyte *Cyanodermella asteris* living within the medicinal plant *Aster tataricus*[J]. P Natl Acad Sci USA,2019,16:26909-26917.
72 Zhao CY,et al. New natural product from marine *Aspergillus*[J]. Acta Microbiol Sin(微生物学报),2016,56:331-362.

(上接第 351 页)

61 Chen S, et al. Lycorine suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis *in vitro* and prevents ovariectomy-induced osteoporosis and titanium particle-induced osteolysis *in vivo*[J]. Sci Rep,2015,5:12853-12853.
62 Bendaif H,et al. Antibacterial activity and virtual screening by molecular docking of lycorine from *Pancratium foetidum Pom*(Moroccan endemic Amaryllidaceae)[J]. Microb Pathog,2018,115:138-145.
63 Lončárek M,et al. Antifungal and antibacterial activity of extracts and alkaloids of selected Amaryllidaceae species[J]. Nat Prod Commun,2015,10:1537-1540.
64 Schimmel K,et al. Natural compound library screening identifies new molecules for the treatment of cardiac fibrosis and diastolic dysfunction[J]. Circulation,2020,141:751-767.
65 Tamplin OJ,et al. Hematopoietic stem cell arrival triggers dynamic remodeling of the perivascular niche[J]. Cell,2015,160:241-252.

天然产物研究与开发