



红树林微生物 天然产物化学研究

徐 静 编著



科学出版社

红树林微生物天然产物化学研究

徐 静 编著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

红树林微生物是一个寻找天然活性物质的巨大宝库,其独特的生境必然会造就不同于其他生态系统的独特而丰富的微生物类群,从红树林共生微生物中发现生物功能分子,已成为天然产物化学研究的热点前沿领域。

本书对红树林微生物及其代谢产物进行了全面描述,比较系统地阐述了国内外红树林微生物来源天然产物化学研究的发展现状和最新成果,对本领域的新概念、新思路、新方法等给予重点介绍,特别是红树林微生物天然产物的结构特征与药理学功能,以期揭示当前本领域的研究热点及存在的问题,并针对这些问题提出可能的发展方向,全面展现了本领域的研究内容和前沿动态。

本书具有较高的学术性、前沿性和实用性,可供从事红树林微生物天然产物化学研究的科研人员、研究生和相关读者参考,也可作为天然产物化学和有机波谱解析课程教学的辅助教材。

图书在版编目(CIP)数据

红树林微生物天然产物化学研究 / 徐静编著. —北京:科学出版社, 2015.1

ISBN 978-7-03-041971-2

I. ①红… II. ①徐… III. ①红树林—海洋微生物—中药化学—研究 IV. ①R284②Q939

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 222730 号

责任编辑:霍志国 / 责任校对:朱光兰

责任印制:徐晓晨 / 封面设计:铭轩堂

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京教图印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015年1月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2015年3月第二次印刷 印张:27 3/8

字数:540 000

定价:128.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

序

海洋微生物是新颖结构活性天然产物的重要来源,海洋微生物资源的开发利用已成为全球的研究热点之一。红树林是一类生长于热带海洋潮间带的特殊海洋生态类群,具有盐胁迫、高矿物组成、强还原性、频繁的潮汐等特征。红树林植物中共生或附生微生物在宿主的生存、进化和化学防御等方面扮演重要角色。近年研究发现,红树植物来源的微生物代谢产生的天然产物具有丰富的结构多样性和新颖性,部分新奇结构化合物具有显著的生物功能和独特的分子作用机制,为创新药物研究和生物农业提供了丰富的模式化合物。从红树林共生微生物中发现生物功能分子,已成为天然产物化学研究前沿领域的热点。

《红树林微生物天然产物化学研究》内容按化学结构将常见红树林微生物来源的天然产物进行分类,在化合物的选编上侧重于结构新颖、生物活性显著的单体化合物,系统性地将同一研究对象的文献资料按生物来源、结构性质、作用机制和应用现状的顺序进行编排,同时结合实践对部分红树林微生物代谢产物的结构解析进行了详细阐述,增加了学科研究最新进展与趋势分析,旨在提炼精华、指导未来,为红树林微生物资源的科学利用提供一定的综合指导和参考。该书内容翔实、表述简洁、方便实用。

徐静博士毕业于 Heinrich-Heine Universität Düsseldorf 药用生物学专业,师从国际知名天然药物专家 Peter Proksch 教授和管华诗院士,术有专攻,徐博士具备了扎实的专业基础和科研能力,在红树林微生物次生代谢产物的研究以及药物先导化合物的开发方面取得了可喜的研究成果,具有良好的学术背景和可造就潜力。她回国后扎根于海南岛,致力于利用热带红树林微生物资源优势,聚焦红树林微生物天然产物化学研究,在科学发现的基础上,努力做出原创性科研工作。“宝刀锋从磨砺出,梅花香自苦寒来”,她凭着钻研、悟性迎来了人生的收获季节,用精美的图片和严谨的措辞将红树林微生物天然产物化学的研究思路和最新发现表述得通俗易懂。在科技日新月异、高度重视青年学者培养的今天,本人欣然提笔为之作序。相信该书的出版发行将对红树林微生物化学相关的学科发展、科学研究、人才培养等起到重要的指导和推动作用。



2014 年 8 月 于北京大学

前 言

当今是海洋天然产物蓬勃发展的时代,随着新技术、新方法的层出不穷,海洋天然产物的研究范畴更是大幅度拓宽、研究内容不断深化,而红树林微生物天然产物化学已成为其中发展最为迅速的前沿学科之一。红树林微生物天然产物化学研究的历史并不长,但得益于陆地天然产物研究的经验、基础和积累,在短短 20 多年时间里,红树林微生物代谢产物的开发速度迅猛,取得了很多重要的研究成果。我国海域辽阔,红树林微生物资源丰富,据初步统计,我国红树林微生物经分离鉴定的有数百种,其中,许多具有抗肿瘤、抗菌、抗甲型 H1N1 流感病毒、抗乙酰胆碱酯酶作用的生物活性物质先后被分离提纯,并且已对其中个别先导化合物进行临床前的研究。新的研究成果层出不穷,显示了我国红树林微生物资源良好的开发应用前景。目前,有关红树林微生物天然产物的报道仅散见于专业期刊和各类海洋天然产物手册中,在国内外还鲜见有关红树林微生物天然产物化学研究的系统、综合的专著,为了使红树林微生物这一宝库得到合理的利用,迫切需要将有有关的知识加以系统化整理,时不我待,势在必行。

弩马十驾,功在不舍。经历 4 年的文献积累、教学积累和科研积累后,作者密切跟踪红树林微生物代谢活性成分研究的前沿和进展,并结合自身多年的研究实践和体会,对现有信息进行归纳整理和总结,锐意进取编写了《红树林微生物天然产物化学研究》。本书比较系统地阐述了红树林微生物天然产物化学研究的发展现状和最新成果,对本领域的新概念、新思路、新方法等给予重点介绍,特别是红树林微生物天然产物的结构特征与药理学功能,以期揭示当前本领域的研究热点及存在的问题,并针对这些问题提出可能的发展方向,全面展现了本领域系统的研究内容和前沿动态。本书的结构体系是以红树林微生物代谢产物的化学结构类型为主线,按照天然产物的微生物生源而作了精心调整和梳理,章节安排包括放线菌(第 1 章)、细菌(第 2 章)和真菌(第 3 章),重点介绍具有新颖分子结构和独特生物活性的功能分子,对生源/有机合成和生态学功能方面进行评述;第 4 章,作者结合多年的研究和教学实践,以红树林共生拟盘多毛孢菌 *Pestalotiopsis* 代谢产物进行示例,给出了大量原始图谱和波谱数据,利用现代各种实验方法和光谱、波谱等结构鉴定技术,对天然产物的化学结构及立体构型进行解析,对某些重点和难点问题作了深入浅出的论述,着力使本书不仅具有比较系统的理论指导意义,而且具有专业的实践可操作性,共享分析和解决实际科研问题的技巧;第 5 章,运用计量学方法,分析了本领域研究的发展趋势和研究动向,提出了一些新的研究思路。希望能

为我国红树林微生物天然产物化学研究水平的提高尽绵薄之力。

本书十分注重天然产物的名词、术语和释义的规范和统一。附录兼具“手册”用途,包括生物来源、化合物名称、生物活性、参考文献索引等,让本书既是一本全面和系统介绍红树林微生物天然产物化学的专业著作,还可作为手册供读者参考,如有需要,可查阅相应参考文献。

红树林微生物天然产物化学所涉及的内容很多,作为一名年轻的微生物资源化学工作者,作者深知才疏学浅,难以把握和概括整个红树林微生物天然产物化学的发展脉络,特别是对如何编好这样一部专注理论性与实践性结合的专著。但作者之所以选择独立完成,是因为想促使自己在广泛查阅和收集大量文献资料的过程中,慢慢明晰细化自己的学术思想,加强知识和信息的吸纳,温故而知新,深刻领会和刻苦钻研其中的重要内涵,准确归纳梳理和把握行文规范。“一花独放不是春,百花齐放春满园”,由于作者学识眼界、编写时间有限,书中疏漏之处在所难免,敬希读者予以批评指正,使未来再版时能更臻完美。

“天行健,君子以自强不息”,面对“十二五”规划建设创新型国家和科技强国对基础研究的新要求,作者生逢其时,研究工作得到了国家科技发展、青年人才培养的大力支持,本书出版由教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-13-0760)和国家自然科学基金青年科学基金(No. 81202456)共同资助完成,在此一并致谢。

感谢父母的养育与多年来的支持,你们的包容与理解使我能够在自己喜欢的领域里勇往直前、无后顾之忧!谨以本书献给我攻读博士期间的两位恩师,德国 Heinrich-Heine Universität Düsseldorf 药用生物学和生物技术科学研究所的 Peter Proksch 教授和中国海洋大学的管华诗院士,在历时 4 年的博士生涯中不断得到他们的悉心指导和提携鼓励,在此对两位恩师表示衷心的感谢!

徐 静

2014 年 8 月 于东坡湖畔

目 录

序

前言

绪论	1
第1章 红树林共生放线菌天然产物	9
1.1 生物碱	10
1.2 萜类化合物	22
1.3 内酯类化合物	23
1.4 肽类化合物	24
第2章 红树林共生细菌天然产物	26
2.1 生物碱	26
2.2 肽类化合物	27
第3章 红树林共生真菌天然产物	29
3.1 生物碱	31
3.2 萜类化合物	47
3.3 香豆素	63
3.4 异香豆素衍生物	64
3.5 色酮类化合物	67
3.6 黄酮类化合物	72
3.7 醌类化合物	72
3.8 氧杂蒽酮类化合物	80
3.9 肽类化合物	84
3.10 酚和酚酸类化合物	88
3.11 内酯类化合物	98
3.12 甾体化合物	115
3.13 其他类型代谢产物	118
第4章 红树林微生物代谢产物结构解析示例	124
4.1 生物碱	127
4.2 倍半萜类	154
4.3 香豆素	194
4.4 异香豆素类化合物	216

4.5	色酮类化合物	222
4.6	内酯类化合物	251
4.7	其他类型代谢产物	330
第5章	结语	335
5.1	红树林微生物代谢产物分布规律	335
5.2	相关研究成果文章发表期刊分布规律	336
5.3	红树林微生物培养的表观遗传学调控	339
5.4	结构新颖的红树林微生物天然产物	340
5.5	显著生物活性的红树林微生物天然产物	341
5.6	新型骨架类型复杂活性天然产物的化学合成	343
5.7	红树林微生物已成为药用成分的替代来源	344
5.8	红树林微生物天然产物的生物合成途径	345
5.9	代谢产物在红树林微生物中的分布规律	347
5.10	代谢产物在红树林宿主中的分布规律	348
5.11	红树林微生物和宿主的化学生态学关系	349
5.12	新技术对红树林微生物天然产物化学的促进	350
5.13	红树林微生物天然产物化学研究的创新思路	351
参考文献		354
附录1	红树林共生放线菌代谢物	385
附录2	红树林共生细菌代谢物	390
附录3	红树林共生真菌代谢物	391

绪 论

天然产物是利用多种现代分离和分析方法,从植物、动物、微生物等天然材料中发现化合物,结合生物学评价和必要的结构修饰等工作,从中发现的当今新药研发紧缺的新药源物质,是人类预防和治疗疾病的重要物质来源。由于天然产物经过了进化选择(evolutionary selection),使天然药物的作用具有高度的特异性和选择性,不仅世界各种传统医药学中使用的药物均属于天然来源的物质,现代医学应用的化学药物中天然来源的化合物也已超 30%,而且还有更多的药物是以天然产物为先导化合物经过结构修饰和结构改造产生的。迄今已报道的天然产物数量超过 100 万种,过去 30 年中,全球推出的 1073 种小分子药物(分子质量<3000)新化学实体的 59% 可以追溯到天然产物,其中 6% 的药物为天然化合物的直接应用,如图 0-1 所示(Newman et al. ,2007,2012; Harvey,2008),具有新颖结构和(或)生物活性显著的天然化合物不但是化学合成新药的重要依据,同时也是新药开发的主要内容。

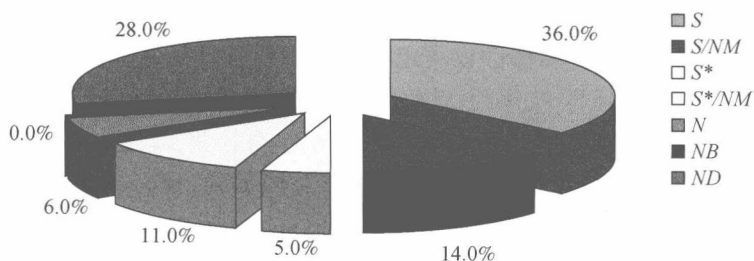


图 0-1 已获批准的小分子药物类型分布图

“S” 全合成药物;“NM” 仿天然产物;“S*” 全合成药物,结构药效团来源天然产物;

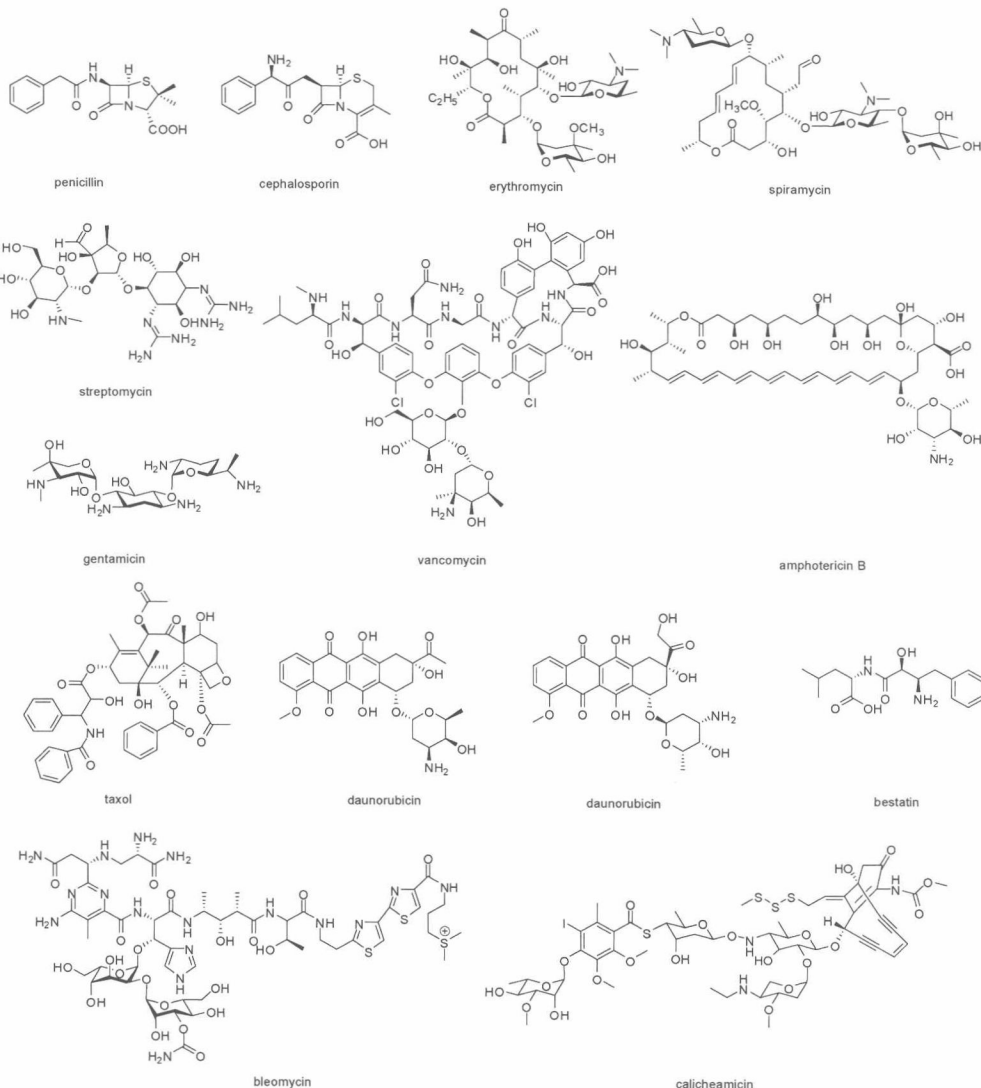
“N” 天然产物;“NB” 植物来源天然产物;“ND” 天然产物衍生物(通常是半合成或结构修饰产物)

微生物是地球上生物量最大的生物类群,其生活的范围最广、生物多样性也最为丰富,自从 1928 年 Fleming 发现微生物产生青霉素(penicillin) 以来,微生物的“产药”潜能迅速得到了深入的研究与利用,抗生素(antibiotics) 的使用使细菌感染已基本得到控制,死亡率大幅度下降,人类寿命明显延长,并于 1940 ~ 1970 年间出现新抗生素的发现高峰。与微生物药物(microbial pharmaceuticals) 研究直接相关的诺贝尔奖包括至少一届化学奖和两届生理学或医学奖;青霉素的发现及其结构修饰(Fleming A, Chain E B 和 Florey H W, 1945 年生理学或医学奖);链霉素的发

现(Waksman S A, 1952 年生理学或医学奖);生物碱、抗菌素、酶和其他天然化合物的立体化学(Prelog V, 1975 年化学奖)。过去几十年,人们在研究和开发微生物代谢产物方面倾注了极大的精力和热情,共获得天然产物超过 50 000 种,微生物药物作为现代药物的重要组成部分,获得了 25 000 多种具有生物活性的次级代谢产物,并持续以幂指数的速度增长[在此生物活性泛指体外(*in vitro*)分子水平/生物体内(*in vivo*)活性],其中有些已开发成药物,近年来微生物来源的生理活性物质亦有近 100 多个品种投入工业生产,全球市值超过 300 亿美元,约占药物市场份额的 20% 以上,如经过临床测试已成功投入医药市场的抗生素类药物,根据结构特点基本上可分为以青霉素(penicillin)和头孢菌素(cephalosporin)为代表的 β -内酰胺类、以红霉素(erythromycin)和螺旋霉素(spiramycin)为代表的大环内酯类、以链霉素(streptomycin)和庆大霉素(gentamicin)为代表的氨基糖苷类、以万古霉素(vancomycin)为代表的糖肽类、以两性霉素 B(amphotericin B)为代表的多烯类;抗肿瘤类药物:以紫杉醇(taxol)为代表的二萜生物碱类、以柔红霉素(daunorubicin)和阿霉素(doxorubicin)为代表的蒽环类、以博来霉素(bleomycin)为代表的糖肽类、以卡利奇霉素(calicheamicin)为代表的烯二炔类、以苯丁亮氨酸(bestatin)为代表的低相对分子质量二肽类;免疫抑制剂:以环孢菌素 A(cyclosporine A)为代表的环多肽类、以雷帕霉素(rapamycin)为代表的大环内酯类;降血脂类药物:以洛伐他汀(lovastatin)和西伐他汀(simvastatin)为代表的内酯类、以普伐他汀(pravastatin)为代表的多元醇类。而结构多样性也决定了它们生物活性的多样性,除了在医药行业中可以充当抗菌杀菌剂、抗癌药、抗寄生虫药、除草剂、酶抑制剂、免疫调节剂、受体拮抗剂、低血胆固醇治疗剂等,天然产物在农业、畜牧业、养殖业中也得到广泛应用,取得了重大效益。著名的农用抗生素有以井冈霉素(validamycin)为代表的氨基糖苷类、以阿维菌素(ivermectin)和多杀菌素(spinosad)为代表的大环内酯类、以盐霉素(salinomycin)为代表的聚醚类天然产物等,如图 0-2 所示(Demain, 2014; Newman et al., 2013)。其中,陆源微生物来源的有机物已有较长的研究历史,从中发现了大量结构新颖、具有广泛生物活性的代谢产物,从而被广泛应用于医药和农业,一度被认为是产生活性物质的重要来源。然而,随着陆地生物资源的广泛研究和深入开发利用以及已知产物的重复分离,近四十多年来微生物新药的发现率持续“低谷”,尽管通过高通量筛选能提高效率,但从中继续发现全新骨架类型或在商业上具有开发价值的高效低毒的新活性物质的概率在快速下降,成为制约发现先导化合物的瓶颈,如图 0-3 所示。鉴于此,如何开拓微生物的新资源成为微生物天然产物研究的重要课题,越来越多的科学家们开始关注研究相对比较薄弱、生物合成潜能卓越的极限环境微生物(extreme microorganisms),即在强烈限制一般生物生长的特殊生态环境下(如高盐、高温、高酸、高碱等环境)能够生存的微生物(黎

唯等,2007)。

红树林(Mangrove)是生长于热带和亚热带海岸和河口潮间带的木本植物群落,不仅指红树植物,还指这一系统中由丰富的生物群落(包括红树、细菌、真菌、放线菌、微藻、大型藻、无脊椎动物、鸟类、哺乳动物等)所形成的红树林生态系统(Mangrove ecosystems)(Gopal et al., 2006; 刘峰等, 2006)。目前全世界的红树林面积约为 1400 万 hm^2 ($1\text{hm}^2 = 10^4\text{m}^2$, 后同), 分布在 112 个国家(Sahoo et al., 2009), 覆盖了世界的热带、亚热带 60% ~ 70% 的海岸线, 根据国际红树林组织所列, 全世界真红树目前有 20 科 27 属 70 种的红树林植物, 主要分布在南北回归线之间, 包



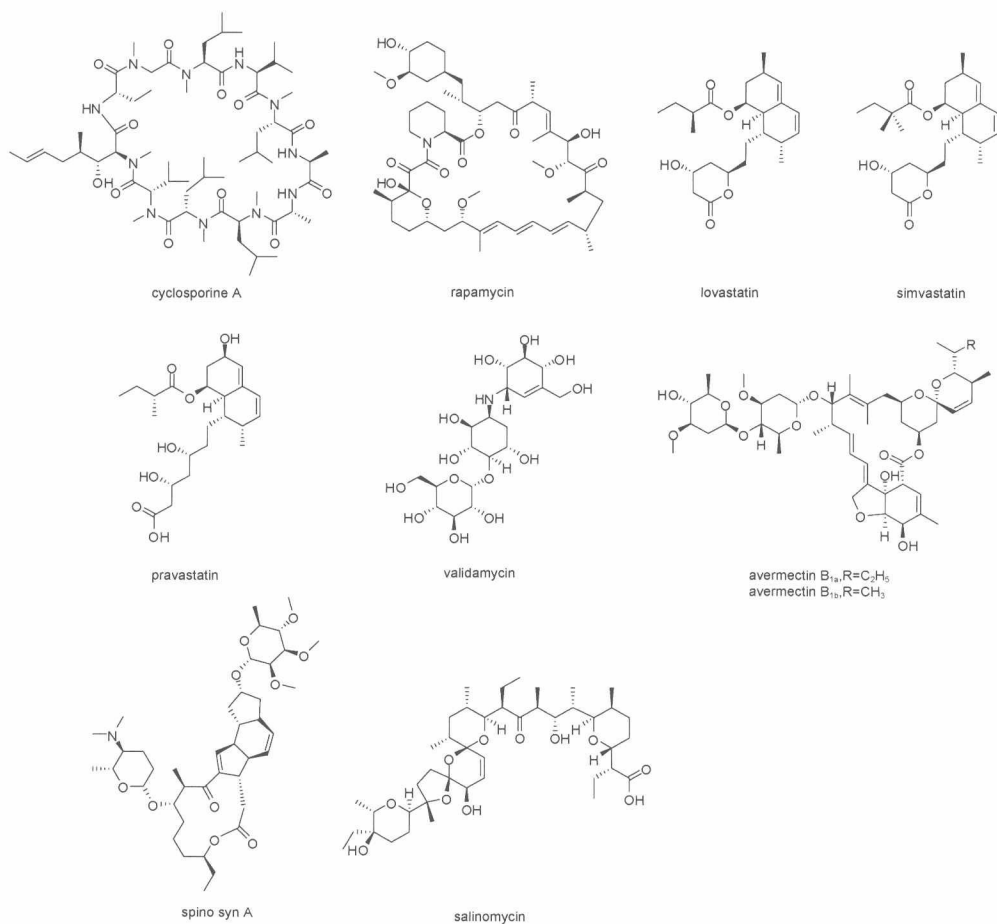


图 0-2 微生物来源药物示例

括巴西、印度尼西亚、澳大利亚、尼日利亚、委内瑞拉、墨西哥、马来西亚、缅甸等国，按分布的经度来区分，可分为东方红树林和西方红树林。东方红树林以印度尼西亚的苏门答腊和马来半岛西海岸为中心；西方红树林主要分布于南美洲东西海岸及西印度群岛、非洲西海岸。我国红树林属于东方红树林，现有红树林面积 15 122hm²，共有红树植物 12 科 16 属 27 种 1 个变种，分属于 8 个群系，即红树群系、木榄群系、海莲群系、红海榄群系、角果木群系、秋茄群系、海桑群系和水椰群系，如表 0-1 所示，自然分布于海南、广东、广西、福建、台湾、香港、澳门等省区，无论是种类和分布范围，在太平洋西岸都具有代表性（林鹏，2001；傅秀梅等，2009）。

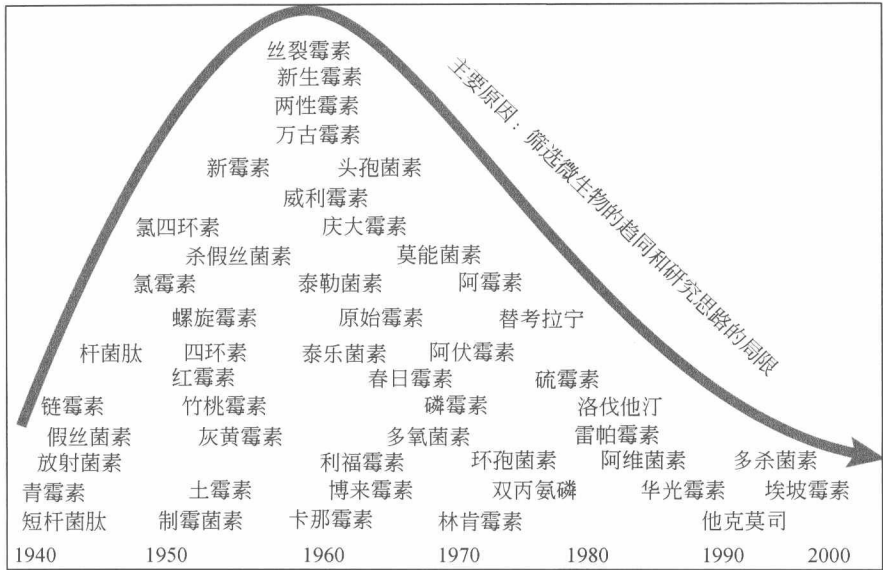


图 0-3 微生物药物发现的过去和现在

表 0-1 中国红树植物的种类及其分布

科名	种名	省份或地区							
		海南	香港	澳门	广东	广西	台湾	福建	浙江
1. Acrostichaceae	1. 卤蕨 (<i>Acrostichum aureum</i>)	+	+	+	+	+	+	+	
	2. 尖叶卤蕨 (<i>A. speciosum</i>)	+			+	+			
2. Rhizophoraceae	3. 柱果木榄 (<i>Bruguiera cylindrica</i>)	+							
	4. 木榄 (<i>B. gymnorhiza</i>)	+	+		+	+	+	+	
	5. 海莲 (<i>B. sexangula</i>)	+						+	
	6. 尖瓣海莲 (<i>B. s. var. rhynchoptala</i>)	+							
	7. 角果木 (<i>Cerops tagal</i>)	+	+		+	+	+		
	8. 秋茄 (<i>Kandelia candel</i>)	+	+	+	+	+	+	+	+
	9. 红树 (<i>Rhizophora apiculata</i>)	+							
	10. 红海榄 (<i>R. stylosa</i>)	+	+		+	+	+	+	
	11. 小老鼠簕 (<i>Acanthus ebracteatus</i>)	+			+				
	12. 老鼠簕 (<i>A. ilicifolius</i>)	+	+	+	+	+	+	+	
3. Acanthaceae	13. 厦门老鼠簕 (<i>A. xiamenensis</i>)							+	
	14. 红榄李 (<i>Lumnitzera littorea</i>)	+							
4. Combretaceae	15. 榄李 (<i>L. racemosa</i>)	+	+		+	+	+		

续表

科名	种名	省份或地区							
		海南	香港	澳门	广东	广西	台湾	福建	浙江
5. Euphorbiaceae	16. 海漆 (<i>Excoecaria agallocha</i>)	+	+		+	+	+	+	
6. Myrsinaceae	17. 木果楝 (<i>Xylocarpus granatum</i>)	+							
7. Myrsinaceae	18. 桐花树 (<i>Aegiceras corniculatum</i>)	+	+	+	+	+	+	+	
8. Palmaceae	19. 水椰 (<i>Nypa fruticans</i>)	+							
9. Rubiaceae	20. 瓶花木 (<i>Scyphiphora hydrophyllacea</i>)	+							
10. Sonneratiaceae	21. 杯萼海桑 (<i>Sonneratia alba</i>)	+							
	22. 海桑 (<i>S. caseolaris</i>)	+							
	23. 海南海桑 (<i>S. hainanensis</i>)	+							
	24. 大叶海桑 (<i>S. S ovata</i>)	+							
	25. 拟海桑 (<i>S. paracaseolaris</i>)	+							
	26. 无瓣海桑 (<i>S. apetala</i>)	+			+			+	
11. Sterculiaceae	27. 银叶树 (<i>Heritiera littoralis</i>)	+			+				
12. Verbenaceae	28. 白骨壤 (<i>Aricennia marina</i>)	+	+	+	+	+	+	+	+
合计		27	10	5	14	11	10	11	1

红树林生态系统处在陆海交替、过渡地域的海岸带,其在结构和功能上既不同于海洋生态系统,也不同于陆地生态系统,作为独特的海陆边缘生态系统兼具陆地与海洋的性质,能够通过光合作用固定 CO₂ 和释放 O₂,减弱温室效应和净化大气,是近海生产力有机凋落物的主要生产者;通过网罗有机凋落物的方式促进土壤沉积物的形成,抵抗洪水冲击,造陆护堤;过滤陆地径流和内陆带出的有机物质和工农业污染物,降解污染物、净化水体;为海洋动物、鸟类提供栖息和觅食的理想环境,在维持海岸生物多样性和防治病虫害等方面起着重要的作用(韩维栋等, 2000)。虽然红树林占据的陆地面积不到全球陆地面积的 1‰,却以相当于亚马孙热带雨林的高生产力与珊瑚礁、上升流、海滨沼泽湿地共同被誉为四大海洋高生产力生态系统,具有高生产力、高归还率、高分解率的“三高”特点。

红树林独特的生境必然会造就不同于其他生态系统的独特而丰富的微生物种类,经过数十亿年来的自然演变,红树林共生微生物群落被认为已经进化形成了特殊的生理代谢系统,在适应生态环境与自我保护的同时,实现通信、觅食等微生物的行为机制,否则难以适应谓之“生命极限”的特殊环境,包括盐胁迫、高矿物组成、强还原性、强酸性、频繁的潮汐、强风、高温、强紫外辐射、缺氧污泥、寡营养等特征(Feller et al. ,2010;洪葵,2013)。据文献报道,细菌是红树林生态系统最主要的

类群,其次是真菌,而放线菌和微型藻类相对较少,在热带红树林微生物类群中,细菌和真菌占微生物总量的 91%,藻类和原生动物所占的比例分别是 7% 和 2% (Alongi et al., 1988; Kathiresan et al., 2001; Holguin et al., 2001),广泛共栖在红树林植物的水上和水下部分、树叶、树干、树根、沉积物、漂浮木、落叶当中 (Sarma et al., 2000; Fryar et al., 2004; Jones et al., 2009),其中包括对各类污染物有降解能力的类群,具高效固氮、溶磷能力的类群,耐盐、嗜盐的类群及能产生各种生理活性物质和代谢产物的类群 (Kristensen et al., 2008; Hyde et al., 1995; Reddy, 1995),如 dos Santos 等 (2011) 使用焦磷酸测序的方法,对石油泄漏对红树林沉积物中微生物类群的影响进行了研究; Gomes 等 (2010) 发现红树林植物 *Avicenia schaueriana*、拉贡木 *Laguncularia racemosa* 和红树 *Rhizophora mangle* 根际沉积物中含有可降解多种常见石油烃污染物质的共生细菌; 细菌菌株 *Rhodococcus* sp.、*Acinetobacter* sp.、*Pseudomonas* sp. 和 *Cycloclasticus* sp., 以及 *Mycobacterium* sp. 和 *Sphingomonas* sp. 的混合发酵可以降解小分子多环芳香化合物 (PAH), 如菲 (Phe)、荧蒽 (Fl) 和芘 (Pyr) (Zhong et al., 2011; Yu et al., 2005); 海洋螺菌目 *Oceanospirillales* 和南极嗜冷菌 *Colwellia* 可以降解短链烷烃 (McGenity, 2014)。由于红树林生态系统的寡营养特性,土壤和气生根际中的固氮菌对于整个半干旱生态系统的正常供氮十分重要, Moseman 等 (2009) 采用乙炔还原来进行微生物固氮评价; Sengupta 等 (1991) 从不同种类红树林沉积物、根际及根表分离出的固氮菌分别归属于固氮螺菌属 *Azospirillum*、固氮菌属 *Azotobacter*、根瘤菌属 *Rhizobium*、梭菌属 *Clostridium* 和克雷伯氏菌属 *Klebsiella*。海水中溶解的无机磷酸盐能迅速被生态系统中的黏土和腐质颗粒吸收,形成难溶性 $\text{Al}^{3+}/\text{Ca}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 磷盐,而不能被红树林植物吸收利用,溶磷菌可以溶解难溶性磷盐,推测机理与其可以分泌有机酸与金属离子络合或螯合有关, Vazquez 等 (2000) 在对墨西哥红树林的研究中,从黑红树 *Black mangrove* 根部分离出了 9 种溶磷细菌: *Bacillus amyloliquefaciens*、*B. atrophaeus*、*Paenibacillus macerans*、*Xanthobacter agilis*、*Vibrio proteolyticus*、*Enterobacter aerogenes*、*E. taylorae*、*E. asburiae* 和 *Kluyvera cryocrescens*, 从假红树中分离出 3 种溶磷细菌: *Bacillus licheniformis*、*Chryseomonas luteola* 和 *Pseudomonas stutzeri*。不同红树林区的环境参数如盐度、pH、有机质及氮、磷、钾含量的差异很大,如海水的平均含盐度 32‰ ~ 38‰,而一般植物超过 2‰ 已难生存, Bharathkumar 等 (2008a) 在红树林生态环境中生长的禾本科稻谷 *Porteresia coarctata* (Tateoka) 根际发现了大量耐盐的细菌,主要属于伽马变形菌纲、硬壁菌门、类杆菌属,采用系统发生学进行分析,发现根际细菌对于提高稻谷的耐盐性有重要作用; Chen 等 (2011a) 从中国东部沿海红树林沉积物中筛选得到一株耐盐的能够分泌漆酶的拟盘多毛孢菌 *Pestalotiopsis* sp. J63; Arfi 等 (2013) 从红树林植物红海榄 *Rhizophora stylosa* 中分离得到另一株耐盐的拟盘多毛孢菌

Pestalotiopsis NCi6, 该菌可分泌产生超过 400 个耐盐的木质素降解酶, 如木聚糖酶、纤维素酶、氧化酶等, 其中大部分通过降解特定的有机质如木质素为可溶解的有机物来促进整个红树林生态系统的营养循环, 而与宿主植物互惠共生。

微生物类群间的相互作用与环境因子的胁迫, 使得红树林共生微生物不断进化形成了独特的生物活性物质合成途径或代谢途径、新的调控机制以及与这些生理生化特性有关的新基因, 具有特殊的代谢类型, 使得红树林微生物在形成特殊群落的同时, 能够从中代谢出陆源微生物所无法比拟的丰富的新颖结构和(或)具有特殊功能的生物活性物质, 其中有许多是在陆栖微生物中未曾见到的, 为新药筛选提供丰富的模式结构化合物, 成为海洋药物研究的热点(林文翰, 2005)。因此, 红树林共生微生物(mangrove-associated microbes)作为亟待研究利用的特殊微生物资源库已经并继续成为新生物活性天然产物的重要来源, 为发现新的药物先导化合物开拓了新的研究领域, 引起了天然产物化学家的广泛兴趣, 如 Blunt 等(2013, 2014)在 *Natural Product Reports* 杂志上的“Marine natural products”近年的系列论文中新增了一章“Fungi from mangroves”; 徐静课题组(2011a, 2015)在 *Current Medicinal Chemistry* 和 *RSC Advances* 杂志上分别对 2011 年之前和 2011 ~ 2013 年报道的红树林微生物来源的功能分子进行了评述; Wang 等(2013a)对中国南海红树林真菌来源代谢产物及其生物活性进行了综述; Proksch 教授课题组对 2000 ~ 2010 年间红树林内共生真菌作为生物活性天然产物来源的开发潜力及研究进展进行了概述(Debbab et al., 2011, 2013)。

红树林共生微生物具有广泛的多样性, 但可培养、已发现的微生物不到微生物类群的 1%, 其中有相当大的一部分是迄今尚未有“家族代表”与人类“见过面”的新种, 在已分离鉴定的微生物中, 已有代谢产物及生物活性物质研究的菌种 < 5%, 主要集中在放线菌、细菌和真菌(Thatoi et al., 2013)。红树林微生物代谢产物种类繁多, 性质复杂, 迄今无统一的分类方法, 常按不同的需要进行分类。本书按产生菌进行一级分类, 包括放线菌(如化合物 1 ~ 80)、细菌(如化合物 81 ~ 91)和真菌(如化合物 92 ~ 851); 按化学结构类型进行二级分类, 重点介绍有关红树林共生微生物天然产物的化学和生物学新发现, 对生源/有机合成和生态学功能方面进行评述, 以上来源的生物大分子不属于本书讨论范畴。

第 1 章 红树林共生放线菌天然产物

放线菌类微生物通常被称为放线菌(actinomycetes),是原核生物中高 G+C 含量的革兰氏阳性细菌类群,是一类最重要的药源微生物。100 年来,放线菌资源研究和开发利用取得了极其辉煌的成就,对医疗事业的发展和人类健康作出了重大贡献。迄今已经发现和描述的放线菌有 4000 多种,分属至少 40 科,180 个属(徐丽华等,2007)。放线菌中含有丰富的生物活性代谢组分,特别是含有大量的抗生素、抗肿瘤组分、免疫抑制组分和酶,已报道的具有生物活性的次代谢产物总共有 22 500 种,其中 10 100 种(45%)是由放线菌分泌的,链霉菌属(*Streptomyces* sp.)分泌的有 7630 种,生物合成能力在放线菌中居于首位,占放线菌总产物的 80%,剩下的 2470 种次代谢物来源于稀有放线菌。目前,约有 140 ~ 160 种具有生物活性的代谢产物被用于临床药物和农业中,其中 100 ~ 120 种来源于链霉菌(Xu, 2011; Berdy, 2005)。然而,随着放线菌药物资源的长期开发和利用,也面临诸多问题,例如:代谢产物的重复分离、去重复难度极大,因而投资周期长(10 年以上)、耗资巨(10 亿美元以上)、风险大;临床抗生素滥用导致细菌的耐药性,在这种新的选择压力下,再加上耐药基因的传代、转移、扩散,耐药菌越来越多,耐药程度不断增加,形成高度和多重耐药,药物开发赶不上病原菌抗药性的增加及不断出现的新疾病;虽然未知放线菌甚多,但发现难度大(Clardy et al., 2006; Subramani et al., 2013)。为解决限制放线菌药物资源持续利用和发展的瓶颈,人们将注意力转向了极端生态环境,如在高温、高压、厌氧、低温、酸碱盐等极限生境中筛选新的放线菌菌株是微生物药物研究的热点。生存于红树林生态系统的放线菌,适应了极限的生长环境,由于红树林生态系统的特殊多样性,因而具有复杂独特的代谢途径,其次级代谢产物在结构类型以及生物活性方面都呈现出与陆生放线菌不同的特点和多样性。

微生物的鉴定是红树林微生物及其代谢产物多样性研究的前提。传统的分类学指标对于形态特征相似的红树林微生物种属常会得出模棱两可的结果,随着科技的发展,人们对微生物的分类和鉴定不再满足于形态学、生理生化反应特征以及免疫学特性的观察与描述,而开始对其本质——遗传信息进行基因型分类(genotypic taxonomy)探索。目前,大量已知微生物的 DNA 都被测定并输入 GeneBank 国际基因数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),成为对微生物鉴定分类非常有用的参照系统,从而可以通过对未知微生物 DNA 序列的测定和比较分析,达到快速、有效的鉴定分类的目的。Clarridge(2004)认为,rRNA 基因序列已成