

## 动物来源放线菌的次级代谢产物及其生物活性研究进展

李芳芳<sup>1</sup>, 陆盛胜<sup>1</sup>, 吉腾飞<sup>2</sup>, 何 坚<sup>1\*</sup>

(1. 南方医科大学药学院, 广东 广州 510515; 2. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

**摘要:** 放线菌是抗生素的主要来源之一, 在人类对抗由致病菌产生的感染性疾病的过程中发挥了不可替代的防治作用。近年来, 由于耐药菌株的不断涌现, 促使人们加快寻找新的抗生素的步伐。寄生于动物体内的共生放线菌, 是目前药用微生物资源的一个重要来源, 也是当前微生物药物研究领域的一个热点。这些微生物在与动物互生共存的演化过程中, 组成了一个动物-细菌共同体, 进而构建成为一个协调而相对独立的微生态环境。在这一特殊环境中, 放线菌所产生的次级代谢产物, 既可被动物机体所耐受, 又具有抑制特定病原微生物的活性。这类次级代谢产物种类繁多、结构特异, 具有抗细菌、真菌、病毒、肿瘤及免疫调节等多种生物活性, 具备开发成为新型药物的巨大潜力。本文旨在总结近十年来关于动物来源放线菌的次级代谢产物及其生物学活性的研究进展, 为进一步开发新型药物提供参考和研究策略。

**关键词:** 放线菌; 次级代谢产物; 生物活性; 动物-细菌共同体

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 07-1091-11

## Advances in secondary metabolites produced by actinobacteria derived from animal-microbe mutualism and their biological activities

LI Fang-fang<sup>1</sup>, LU Sheng-sheng<sup>1</sup>, JI Teng-fei<sup>2</sup>, HE Jian<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Actinobacteria remain to be one of the major sources for new antibiotics, which historically play an essential role in human's fight against infectious diseases. Due to the emergence of resistant pathogenic microorganisms such as bacteria, fungi and viruses, it is imperative to develop new and effective drugs against these pathogens. The symbiotic actinobacteria residing inside the animals are becoming more and more important as a new source for drug discovery, as well as a "hotspot" in the field of microbial medicine. During the long period of evolution, a specific host-microbe mutualism is formed between the symbiotic bacteria and their hosts of animals. In this unique ecosystem, the secondary metabolites produced by bacteria are well tolerated by the hosts, meanwhile, are able to selectively suppress pathogenic microorganisms, thus providing a specific protection to their hosts. These secondary metabolites encompass a large variety of structural diversities of natural products, and so far, the reported biological activities are including antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor, and immunomodulatory effects, which give them a great potential in the field of drug discovery. Herein, we review the secondary metabolites of animal symbiotic actinobacteria and their biological activities within the recent decade, by which to provide a viewpoint for future research of drug discovery from actinobacteria.

**Key words:** actinobacteria; secondary metabolites; biological activities; host-microbial mutualism

收稿日期: 2016-12-26; 修回日期: 2017-01-19.

基金项目: 广东省科技厅资助项目 (2014A020210014, 2015A020211010).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-20-61648717, E-mail: jianhe@smu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1220

天然化合物是新药或其先导化合物的重要来源之一。例如, 目前上市的抗肿瘤药物中, 直接或间接来源于天然产物的药物占 63%, 这一结果在抗感染药物领域表现得尤其明显, 约占 70%<sup>[1]</sup>。作为天然产物的一个重要组成部分, 放线菌产生的次级代谢产物是其中最活跃的领域之一。自 1941 年发现链霉素以来, 到目前为止, 据估计已发现的 10000 多种抗生素中, 有 80% 是放线菌产生的。此外, 报道过的 22000 多个微生物的次级代谢产物中, 有 70% 来自放线菌、20% 来自真菌、10% 来自其他微生物<sup>[2]</sup>。

放线菌 (actinobacteria) 属于革兰阳性菌, 具有高的 G+C 含量, 大多数有发达的分枝菌丝, 菌丝纤细, 宽度约 0.5~1 μm。作为天然产物资源的一部分, 放线菌在自然界分布很广, 次级代谢产物具有种类复杂性、多样性和特殊性的特点, 为新颖的化合物结构骨架提供了可能, 在天然产物研究中一直占有重要的地位<sup>[3]</sup>。然而, 经过上世纪几十年的快速发展, 目前已经达到一个瓶颈, 寻找新的资源成为迫切需求。近年来, 越来越多的研究表明, 动物来源的放线菌是微生物药物开发潜力最大的一类微生物资源, 显示出了较好的应用前景。本文将从生物活性的角度总结近十年来关于动物来源放线菌的次级代谢产物及其生物学活性的研究进展, 为进一步深入开发这一资源提供参考。

### 1 动物来源放线菌的特点

据估计, 地球上生活着数百万种动物, 它们的形态和生活习惯各异, 为体内微生物生长提供了多样的环境。动物来源的放线菌由于其遗传和代谢, 以及与动物相互作用的不同, 造就了不同于外界环境微生物的特性。由于宿主可以对微生物进行选择, 这些微生物进而与宿主形成互惠共生的复合体, 因此动物体内这一环境下微生物的多样性可以说是宿主与相应部位微生物之间相互选择和协同进化的结果。例如宿主的肠道等部位为微生物提供了包括氧气、营养物质、天然屏障、适宜的温度和 pH 等生长和繁殖所需的各种生理条件, 而微生物反过来影响宿主的能量摄入、分布和消耗等代谢功能, 进而影响宿主的健康<sup>[4-6]</sup>。研究表明, 这类微生物表现出多种多样的生物学功能, 且属于相对未开发的菌群, 因此值得深入研究和探索<sup>[7-9]</sup>。

截至目前, 人们研究了多种动物体内分离得到的微生物产生的次级代谢产物及其生物活性<sup>[10]</sup>, 这些菌株分别来源于人体<sup>[11]</sup>、大熊猫<sup>[12]</sup>和犬<sup>[13]</sup>的肠道, 以及多种海洋动物体内等, 其中许多研究与放线菌

相关。例如从这些特殊环境的微生物中, Ding 等<sup>[14]</sup>从大象肠道放线菌中分离得到多个高活性的抗肿瘤和抗真菌化合物, Viaud 等<sup>[15]</sup>发现肠道微生物在肿瘤免疫疗法方面的巨大潜力, Rea 等<sup>[16]</sup>从人体肠道细菌中分离得到专一性抗难辨梭状芽孢杆菌化合物 thuricin CD, 以及 Zhao 等<sup>[17]</sup>的研究表明, 肥胖症、糖尿病等疾病也与肠道微生物的某些菌群相关。大量研究表明, 动物来源放线菌的次级代谢产物种类繁多、结构新颖, 具有抗细菌、真菌、病毒以及肿瘤等多种多样的生物活性。

### 2 抗细菌和真菌活性

动物来源放线菌的次级代谢产物中, 具有多种吩噻类、生物碱类、内酯类以及环肽类化合物。研究发现, 这些化合物具有显著的抗细菌、真菌等活性, 发挥着特定的生物学功能。

海绵作为世界上最原始、最简单的多细胞动物, 种类达到海洋动物种类的 1/15, 是一个庞大的多孔类动物“家族”。研究表明, 许多从海绵中分离得到的放线菌菌株具有较好的抗菌活性<sup>[18-21]</sup>。例如, Karuppiah 等<sup>[19]</sup>从中国南海采集的 7 种海绵中分离得到的 197 株放线菌中, 通过基因筛选和化学分析筛选相结合的方法, 分离得到两个具有抗蕈状芽孢杆菌、金葡菌、大肠埃希菌和藤黄微球菌活性的化合物 1,6-dihydroxyphenazine (**1**) 和 1,6-dimethoxyphenazine (**2**)。此外, Dashti 等<sup>[20]</sup>从 *Actinokineospora* sp. EG49 和 *Nocardiopsis* sp. RV163 两株放线菌的共培养代谢物中也分离得到了上述化合物 **2**。他们发现这个化合物不仅可以抑制芽孢杆菌和布氏锥虫, 还可以抑制 *Actinokineospora* sp. EG49 的生长, 由此说明菌种共培养可以激发某些放线菌沉默基因的表达。Ng 等<sup>[21]</sup>发现, 盐孢菌属海洋放线菌能产生利福霉素等生物活性物质从而具有抗结核分枝杆菌的活性。为此, 他们从澳大利亚大堡礁的海绵中分离得到 *Salinispora arenicola* M413, 并探索了该菌合成利福霉素的生物合成途径。

珊瑚是属于刺胞动物门珊瑚虫纲的海生无脊椎动物。Zhang 等<sup>[22]</sup>研究了中国南海浅水珊瑚中 123 株可培养放线菌的物种多样性及其抗菌活性, 随后 Li 等<sup>[23]</sup>研究了中国南海造礁石珊瑚中得到的 70 株可培养放线菌的抗菌活性, 他发现其中 6 株放线菌的粗提物显示出与环丙沙星相当甚至更好的抗溶藻弧菌活性。此外, Nong 等<sup>[24]</sup>从寄生于中国南海柳珊瑚 (*Muricella flexuosa*) 的放线菌 (*Streptomyces* sp. SCSGAA0009) 中分离到 2 个生物碱类化合物, N-[2-

(1*H*-indol-3-yl)ethyl]propionamide (**3**) 和 phenazine-1-carboxylic acid (**4**)。其中化合物 **4** 对大肠埃希菌和海洋细菌假单胞菌 (*P. piscida* UST010723-006) 具有显著抑制作用。同时, 该化合物还具有抗草苔虫幼虫的附着作用 ( $EC_{50} < 25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。因此可以推断, 化合物 **4** 具有抵抗海洋细菌对珊瑚的入侵和致病作用, 以及潜在的天然抗污作用 (美国海军舰队规定的天然抗污损剂  $EC_{50} = 25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

蚂蚁属于膜翅目蚁科昆虫, 遍布全球, 是一种社会性昆虫, 在热带地区最为常见。日本科学家 Matsui 等<sup>[25]</sup>从白蚁的消化道中得到一株具有抗微球菌、芽孢杆菌和假丝酵母菌活性的链霉菌 CA1, 并进一步从该菌的代谢产物中纯化得到 actinomycin X<sub>2</sub> (**5**) 和 D (**6**) 两个化合物。化合物 **5** 是内酯类抗生素, 而 **6** 则具有抗真菌和抗癌活性。从南美的 *Trachymyrmex* 属蚂蚁中, Mendes 等<sup>[26]</sup>分离得到 24 株放线菌, 从中筛选具有抗白色念珠菌活性的菌株。在此基础上, 他们从 *Streptomyces* sp. TD025 中分离得到两个新化合物 urauchimycins A (**7**) 和 B (**8**)。这些化合物表现出较好的抗白色念珠菌活性 (表 1)。Oh 等<sup>[27]</sup>从寄生于蚂蚁 (*Apterostigma dentigerum*) 表皮的放线菌 (*Pseudonocardia* sp.) 中分离得到一个环状的缩肽类化合物 dentigerumycin (**9**)。令人称奇的是, 该化合物对蚂蚁身上共存的不同属真菌具有选择性的抑制作用。此外, Dangelo 等<sup>[28]</sup>也发现切叶蚁表皮中的放线菌可以抑制切叶蚁身上寄生的丝状真菌, 从而达到保护切叶蚁的作用。

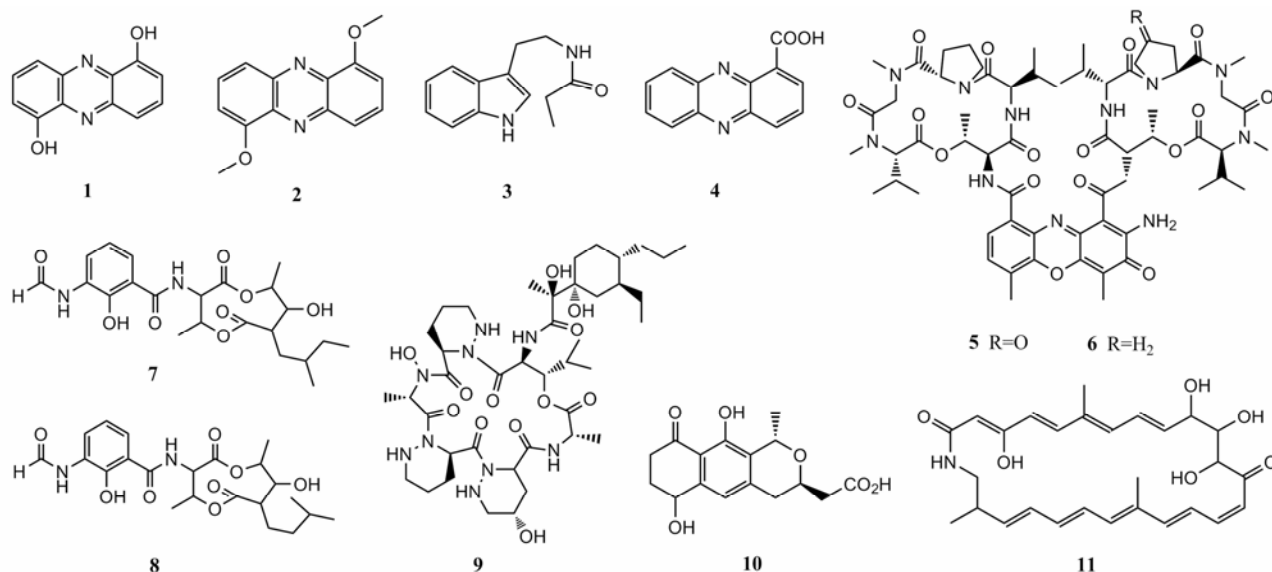
白蚁可以利用自身的粪便作为巢穴的骨架。Visser 等<sup>[29]</sup>推测从荷兰白蚁巢穴中分离得到的放线

**Table 1** Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicide concentrations (MFC) of urauchimycins A (**7**) and B (**8**) ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). \* $>1\ 000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

Candida species	Urauchimycin A		Urauchimycin B		Nystatin	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>C. albicans</i>	1	*	1	3	1	2
<i>C. dubliniensis</i>	800	*	2	3	1	2
<i>C. glabrata</i>	2	15.6	2	2	1	1
<i>C. krusei</i>	15.6	15.6	2	3	2	3
<i>C. parapsilosis</i>	*	*	2	2	1	2
<i>C. tropicalis</i>	*	*	2	2	4	4

菌可能能够抑制白蚁的共生真菌 *Pseudoxylaria* 和 *Termitomyces* 从而保护白蚁。为此, 他们从白蚁巢穴不同的位置分离出 360 株放线菌, 然后通过抗菌实验证明了这一猜想。与此相似, Chouvenec 等<sup>[30]</sup>从美国白蚁 *Coptotermes formosanus* 巢穴中找到一株放线菌, 它可以在白蚁觅食的时候抑制黑僵菌 *Metarhizium anisopliae*, 进而起到保护白蚁的作用。他们进一步研究了该放线菌株对不同属真菌的抑制活性以及抗黑僵菌的作用机制。此外, Lu 等<sup>[31]</sup>从白蚁巢中分离得到一株放线菌 *Streptomyces violaceoruber* BYC 01, 发现其发酵液的乙酸乙酯提取物能够抑制苹果树腐烂病菌、水稻纹枯病菌、杨树溃疡病菌、白色念珠菌、金葡菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌和水稻白叶枯病菌, 并从中分离得到单体化合物 fogacin (**10**)。活性测试结果表明, 该化合物能够抑制白色念珠菌的生长。

从胡蜂体表及体内分离出放线菌株并测试其抗菌活性是另一报道较多的研究<sup>[32,33]</sup>。Oh 等<sup>[34]</sup>从寄生于美国威斯康星州胡蜂 (*Sceliphron caementarium*) 体表的放线菌 (*Streptomyces* sp.) 中分离得到一个具



有 9 个双键、26 个碳原子的大环酰胺类化合物 sceliphrolactam (**11**), 该不饱和化合物性质不稳定, 易被光照、高温和路易斯酸分解。他们发现在避光的条件下, 化合物 **11** 对耐两性霉素的白色念珠菌具有显著的抑制活性 ( $MIC=4 \mu g \cdot mL^{-1}$ )。

此外, 还有文献报道了从蚯蚓、淡水鱼肠道, 北美洲鹌的气管、食管、盲肠和泄殖腔, 以及梅花鹿、大象等中分离出放线菌菌株, 并测试了其抗菌活性<sup>[13, 35–38]</sup>。其中从我国一级保护动物梅花鹿的皮肤中分离得到的放线菌菌株 JN411010, 经培养后纯化得到 14 个化合物 (**12**~**25**), 部分化合物对芽孢杆菌、白喉杆菌和大肠埃希菌表现出较好的抑制活性<sup>[38]</sup>。

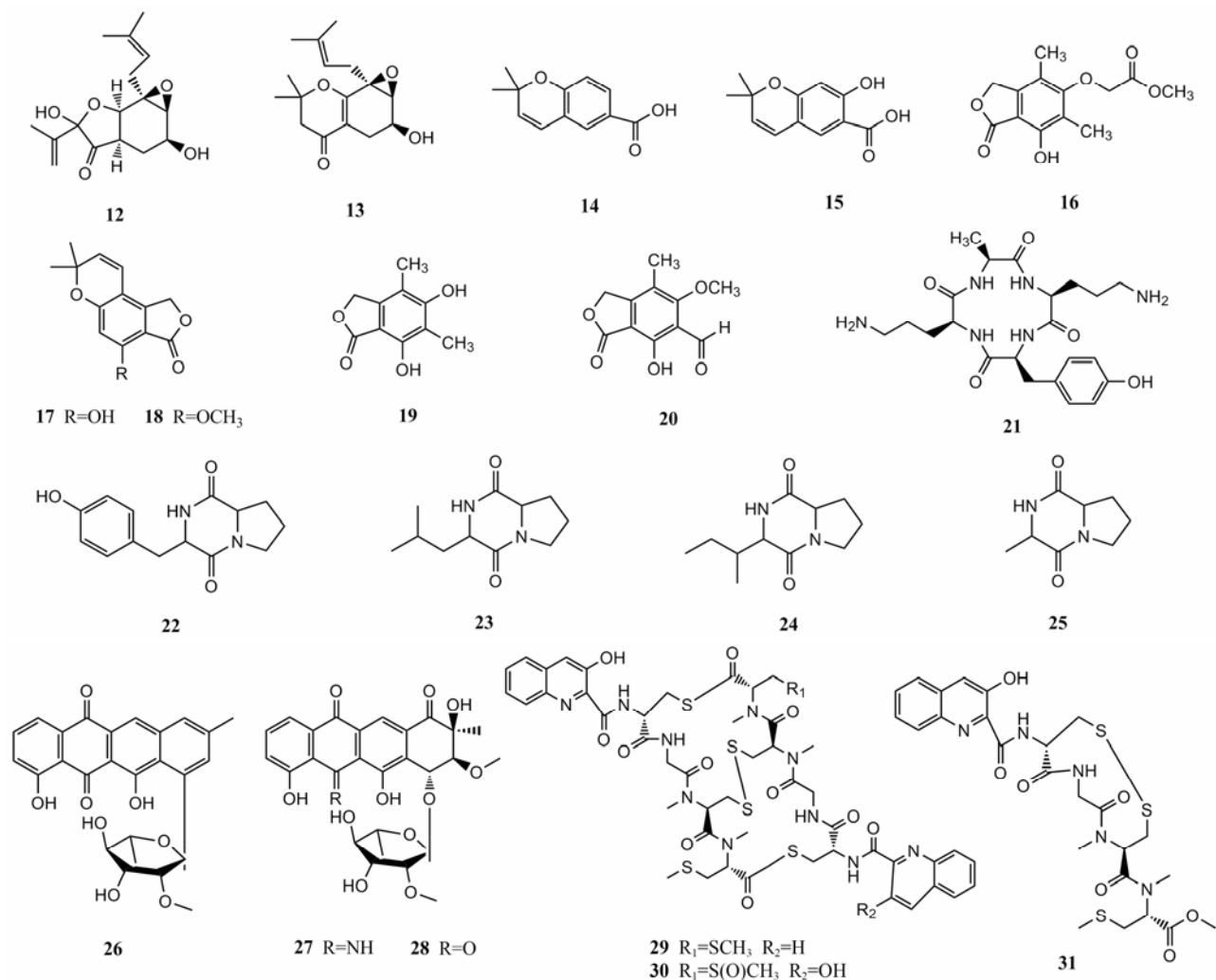
### 3 抗肿瘤活性

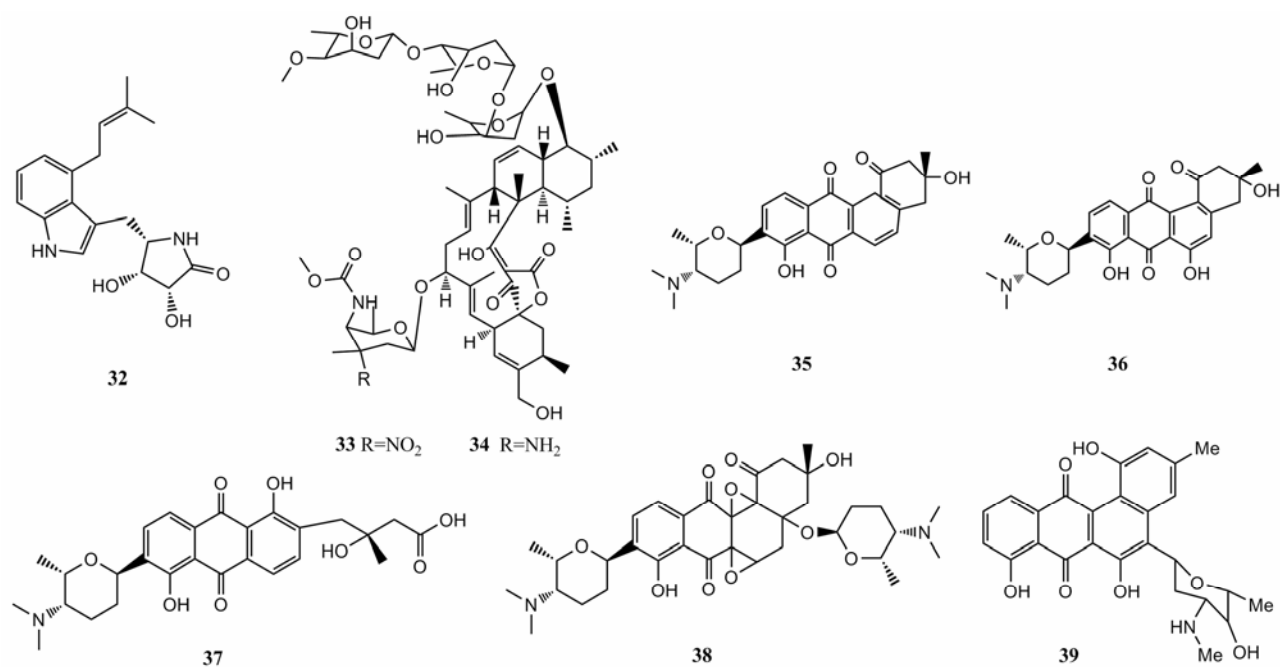
天然化合物及其衍生物是抗肿瘤化合物的重要来源之一。细胞毒性实验结果表明, 动物来源放线菌的次级代谢产物也具有比较明显的抗肿瘤活性。Motohashi 等<sup>[39]</sup>从海绵中分离得到的放线菌 *Streptomyces* sp. Sp080513GE-26 中得到 3 个具有抗人

宫颈癌 HeLa 细胞和抗人急性骨髓性白血病 HL-60 细胞活性的化合物, 分别命名为 tetracenoquinocin (**26**)、5-iminoaranciamycin (**27**) 和 aranciamycin (**28**)。

Wyche 等<sup>[40]</sup>从海绵 *Chondrilla caribensis* f. *caribensis* 中分离得到一株疣孢菌, 然后从其代谢产物中分离出 5 个新的 thiocoraline 类似物, 其中 22'-deoxythiocoraline (**29**)、12'-sulfoxythiocoraline (**30**) 和 thiochondrilline C (**31**) 都具有抗 A549 肿瘤细胞的活性, 其  $EC_{50}$  值分别为 0.13、1.26 和  $2.86 \mu mol \cdot L^{-1}$ 。从海绵中得到的稀有放线菌 *Amycolatopsis* sp. 中, Kwon 等<sup>[41]</sup>纯化得到具有较强抗胃癌细胞 SNU638 和结肠癌细胞 HCT116 活性的化合物 amycolactam (**32**), 其  $IC_{50}$  值分别为 0.8 和  $0.2 \mu mol \cdot L^{-1}$ 。

化合物 lobophorin C (**33**) 和 D (**34**) 是从中国东海海绵里面分离得到的放线菌 *Streptomyces carnosus* AZS17 中分离出的两个次级代谢产物, 其中化合物 **33** 能够抑制人肝癌细胞 7402 的生长, 而 **34** 对人乳腺癌细胞 MDA-MB 435 的抗肿瘤活性较高<sup>[42]</sup>。





从海绵里面分离得到的放线菌中, Khan 等<sup>[43]</sup>筛选得到具有抗人宫颈癌 HeLa 细胞和恶性间皮瘤 ACC-MESO-1 细胞活性的阿雷西霉素类似物 JBIR-43。Vicente 等<sup>[44]</sup>则从波多黎各海绵 *Scopalina ruetzleri* 中得到一株放线菌 *Streptomyces* sp. M7-15 中分离得到 9 个化合物, 其中化合物 frigocyclinone (35)、monacyclinone C (36)、monacyclinone E (37) 和 monacyclinone F (38) 对 rhabdomyosarcoma 肿瘤细胞 (SJCRH30) 的抑制活性的 IC<sub>50</sub> 值分别为 5.2、160、270 和 0.73  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 且 38 还具有抗革兰阳性菌的活性。

Schneemann 等<sup>[45]</sup>通过基因筛选的方法从海绵 *Halichondria panicea* 中分离得到的一株放线菌 *Streptomyces* sp. HB202, 并从该菌的发酵液中纯化出一个芳香多酮类化合物 mayamycin (39)。活性测试表明, 该化合物对 8 种不同肿瘤细胞 (肝癌细胞 HepG2、结肠腺癌细胞 HT-29、胃癌细胞 GXF251L、非小细胞肺癌细胞 LXF529L、乳腺癌细胞 MAXF401NL、黑色素瘤细胞 MEXF462NL、胰腺癌细胞 PAXF1657L 和肾癌细胞 RXF486L) 都具有较好的抑制作用, 并且还可以抑制多种耐药菌株的生长 (表 2)。

海星属于海洋中的一类肉食性棘皮动物, 在海洋碳循环中有着重要作用。Shin 等<sup>[46]</sup>从棘冠海星 *Acanthaster planci* 中得到的放线菌次级代谢产物中分离获得 4 个 violapyrones 化合物 (40~43), 它们对所测试的 10 株不同肿瘤细胞都有抑制活性, 其 GI<sub>50</sub> 值在 1.10~26.12  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  之间 (表 3)。

**Table 2** Antibacterial activity of mayamycin (39) against bacterial strains (IC<sub>50</sub>/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). <sup>a</sup>A positive control of chloramphenicol or tetracycline; <sup>b</sup>n.d.: Not determined

Bacterial strain	Mayamycin	Standard <sup>a</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> (DSM 347) standard: chloramphenicol	8.0	9.0
<i>Brevibacterium epidermidis</i> (DSM 20660) standard: tetracycline	7.54	13.9
<i>Dermabacter hominis</i> (DSM 7083) standard: tetracycline	8.4	1.2
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC 700603; ESBL) standard: chloramphenicol	2.5	n.d. <sup>b</sup>
<i>Propionibacterium acnes</i> (DSM 1897) standard: chloramphenicol	31.2	1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (DSM 50071) standard: chloramphenicol	2.5	27.3
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 12600) standard: moxifloxacin	2.5	7.5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC33593; MRSA)	1.25	n.d. <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (DSM 20044)	0.31	n.d. <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus lentus</i> (DSM 6672) standard: chloramphenicol	8.0	2.3
<i>Xanthomonas campestris</i> (DSM 2405) standard: chloramphenicol	30.0	3.6

Ye 等<sup>[47]</sup>从海参的泄殖腔中分离得到一株放线菌 *Pseudonocardia* sp. HS7, 并从中纯化得到 5 种弯孢霉素大环内酯类化合物 (44~51), 其中化合物 44~49、51 对神经胶质瘤 C6、U87-MF、SHG-44 和 U251 细胞株, 结肠直肠癌 HCT-15、SW620 细胞株等均有不同程度的抑制作用, 且化合物 47 的活性最好 (IC<sub>50</sub> = 0.59~3.39  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。此外, 44 和 45 还能抑制大肠埃希菌的生长。

从中华稻蝗消化道中分离出的稀有放线菌 *Amycolatopsis* sp. HCa1 中, Guo 等<sup>[48]</sup>纯化得到 10 个

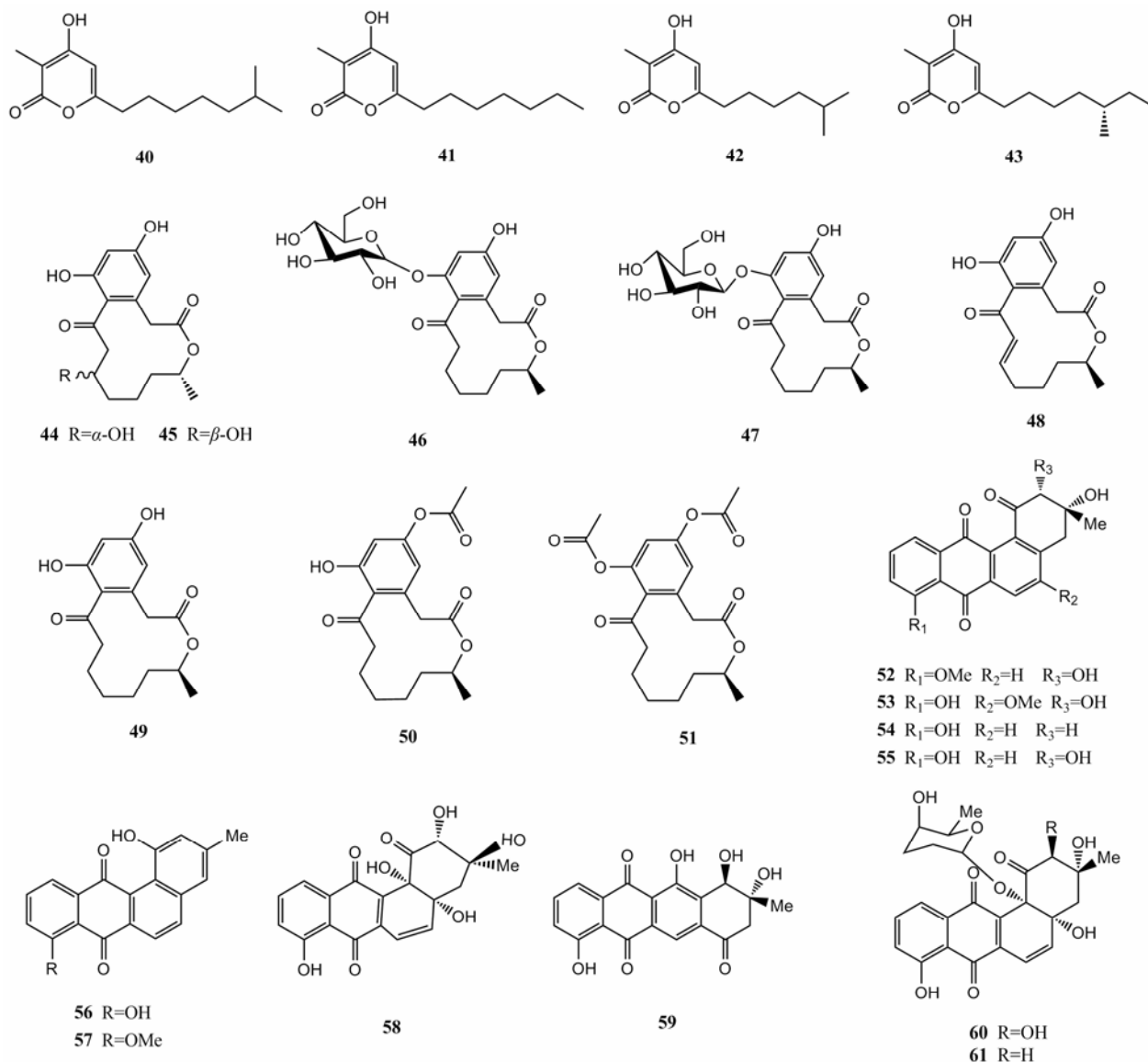
**Table 3** Growth inhibition of compounds **40–43** against a panel of human tumor cell lines ( $GI_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).  $GI_{50}$  values are the concentration corresponding to 50% growth inhibition; ADR: Adriamycin as standard

Cell line	<b>40</b>	<b>41</b>	<b>42</b>	<b>43</b>	ADR
Cervical cancer: HeLa	25.05	5.54	18.12	9.91	0.09
Renal cancer: ACHN	1.79	5.42	1.18	1.55	0.04
Colon cancer: HCT-15	1.10	3.38	2.01	5.22	0.08
Colon cancer: HCT-116	8.99	18.08	15.83	26.12	0.09
Breast cancer: MDA-MB-231	1.51	6.29	1.80	4.94	0.99
Lung cancer: NCI-H23	1.24	3.47	1.90	3.24	0.04
Lung cancer: NCI-H460	4.45	21.04	6.37	10.80	0.07
Stomach cancer: NUGC-3	1.27	3.36	2.24	4.02	0.12
Liver cancer: Hep-G2	2.30	14.60	2.04	3.96	0.08
Prostate cancer: PC-3	1.37	5.44	1.40	2.06	0.06

化合物 (**52~61**)。经抗肿瘤活性检测表明, 化合物 **53**、**55**、**60**、**61** 抑制人宫颈癌 HeLa 细胞的  $IC_{50}$  值分

别为 0.27、0.11、0.56 和  $0.39 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

蛻螂俗名屎壳郎, 会收集食草动物的粪便滚成球状, 并在粪球 (又称育雏球) 中产下一个虫卵, 幼虫在充满微生物的粪球中经数月可孵育长大。蛻螂、幼虫及粪球中的微生物形成了一个共存和谐的整体。Kim 等<sup>[49]</sup>从蛻螂 (*Copristri partitus*) 育雏球分离得到的放线菌 (*Streptomyces* sp.) 里面得到 6 个化合物 (**62~67**)。这些化合物具有类似 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 的结构, 因此可代谢为 1-methyl-4-phenylpyrimidium (MPP<sup>+</sup>), 从而具有神经细胞毒性, 引起帕金森病。他们还发现, 化合物 **62** ( $IC_{50}=5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、**63** ( $IC_{50}=2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 能显著降低 MPP<sup>+</sup> 对多巴胺能神经细胞 SH-SY5Y 的毒性作用, 推测其吡啶环上的苯基可能是重要的效应基团。此外, 由于化合物 **64** ( $IC_{50}=27 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、**65** ( $IC_{50}=107 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )



母核上存在着吡啶环, 因此具有一定的抗肿瘤活性。

#### 4 其他生物活性

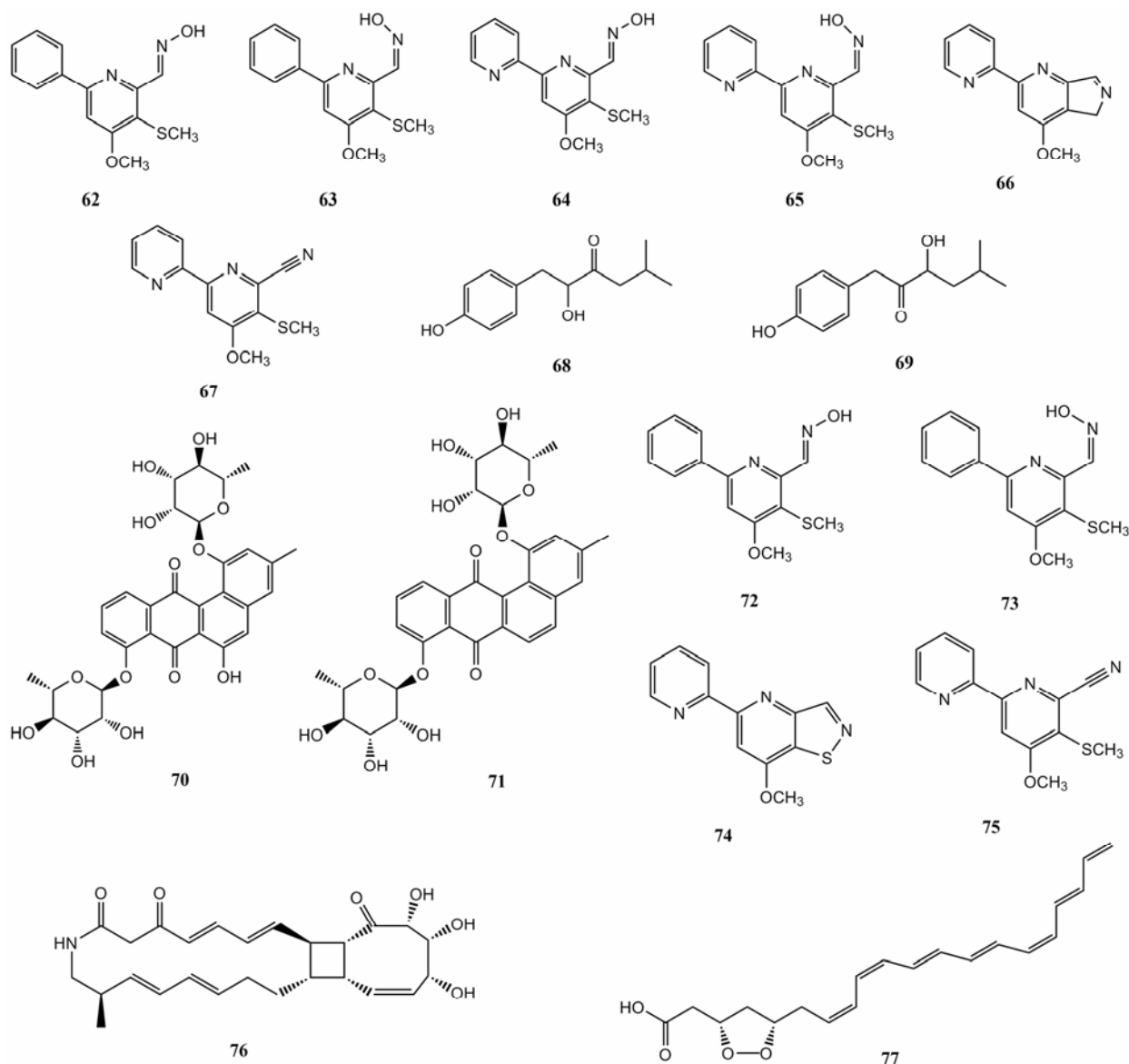
除抗细菌、真菌和肿瘤活性外, 从动物来源的放线菌中还分离得到具有抗病毒、抗氧化、抗寄生虫、抗水解酶, 以及抗疟疾等多种生物活性的化合物。研究表明, 由于这些化合物具有特定的药效基团, 所以表现出特定的生物学活性。

从寄生于热带海洋动物鸡心螺 (*Conus cumcicus*) 毒液管的放线菌 (*Gordonia* sp. 647W.R.1a.05) 中, Lin 等<sup>[50]</sup>纯化得到 12 个化合物, 其中 4-hydroxysat-tabacin (68) 和 soraphinol C 12 (69) 能够抑制单纯疱疹病毒 (*Herpes simplex*)。

Grkovic 等<sup>[51]</sup>从海绵中分离得到的 *Actinokineospora* sp. EG49 菌株中分离得到两个化合物 actinosporins C (70) 和 actinosporins D (71), 它们具有明显的抗氧化

活性, 并且能对由过氧化氢导致的基因损伤提供保护作用。此外, Cheng 等<sup>[52]</sup>从希腊海绵中发现一株放线菌株具有抗锥虫活性, 以及 Tabares 等<sup>[53]</sup>从加勒比海绵分离得到的 6 株放线菌具有抑制蛋白酶和诱导人类外周血中细胞因子释放的活性。

三开蛻螂是一种有名的杂食性害虫。Kim 等<sup>[54]</sup>从三开蛻螂 *Copris tripartitus* 来源的链霉菌中分离得到 4 个对 MPP<sup>+</sup> 导致的神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞的神经毒性有保护作用的化合物 coprismycins A (72) 和 B (73), 以及 dipyrindines (74, 75)。Park 等<sup>[55]</sup>从蛻螂 (*Copristri partitus*) 育雏球的放线菌中分离得到 1 个三环内酰胺结构化合物 tripartilactam (76), 该化合物具有独特的 4-, 8-, 18-三环结构, 在臭氧和酸存在的情况下, 易于分解为 3-氨基-2-甲基丙酸的结构。研究发现该化合物具有抑制 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶的作用 (IC<sub>50</sub>=



16.6  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

另据报道, Oh 等<sup>[56]</sup>从美国南方松甲虫 (*Dendroctonus frontalis*) 的共生放线菌次级代谢产物中分离得到一个多烯过氧化物 (77)。该化合物含有 7 个不饱和双键、1 个双氧戊环和 1 个羧基。77 对担子菌类具有较强的抑制能力, 而对子囊菌类则不敏感 (表 4)。另外, 该化合物 ( $\text{EC}_{50}=17 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 还具有类似于青蒿素、氯喹 ( $\text{EC}_{50}=10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的抗疟作用。由此表明, 许多放线菌能够以次级代谢产物为媒介, 帮助宿主对抗外来真菌的感染, 进而造就一个宿主-寄生真菌-细菌三者和谐共存的生态环境<sup>[57]</sup>。

**Table 4** Minimum inhibitory concentration values of mycangimycin (77) and amphotericin B against various fungal strains ( $\text{MIC}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

Strain	Mycangimycin	Amphotericin B
<i>C. albicans</i> wild type	0.2	0.4
<i>C. albicans</i> ATCC10231	0.2	0.4
<i>S. cerevisiae</i>	0.4	0.4
<i>O. minus</i>	1.2	2.5
<i>Entomocorticium</i> sp.	19.2	50.0

## 5 构效关系研究

动物来源放线菌的次级代谢产物种类繁多、结构各异。从化合物母核来看, 吩嗪类化合物 (1、2、4) 多具有较好的抗细菌活性, 而大环内酯类化合物 (5~7)、多烯类 (11)、环状缩肽类 (9、21) 等则表现出较高的抗真菌的活性。到目前为止, 分离得到的抗肿瘤化合物的数目最多的, 其结构骨架主要为蒽醌类 (如 26~28、35~39、52~61 等)、大环内酯类 (44~51), 以及部分带有 7 到 8 个碳原子饱和脂肪烷烃侧链的吡喃酮类化合物 (40~43)。因此, 根据这些次级代谢产物的药效基团, 可在一定程度上推测其所具有的生物活性。例如 deoxythiocoraline (29)、sulfoxythiocoraline (30) 和 thiochondrilline C (31) 都具有 3-羟基喹啉结构, 是噻可拉林类似物<sup>[40]</sup>, 因此这些化合物都具有抗肿瘤细胞的作用。Coprismycin A (62) 具有类似 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 的结构, 可减轻内源性  $\text{MPP}^+$  诱导的神经毒性, 具有治疗神经退行性疾病如帕金森氏病的潜力<sup>[49]</sup>; 再例如 mycangimycin (77) 具有与青蒿素相类似的 1,2,4-三氧杂环己烷结构, 因而表现出抗疟原虫的活性<sup>[56]</sup>。

进一步从取代基来看, 相比 urauchimycins A (7) 与 urauchimycins B (8)<sup>[26]</sup>, 二者仅侧链甲基取代位置不同, 但在抗真菌活性上差别较大, 由此表明空间关

系对其抗真菌活性有着重要的影响 (表 1)。噻可拉林 (thiocoraline) 能显著抑制人肺腺癌细胞 A549 的生长 ( $\text{EC}_{50}=0.0095 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 但其 22' 位脱羟基衍生物 deoxythiocoraline (29) 活性显著降低 ( $\text{EC}_{50}=0.13 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ); 而当 12' 位的硫甲基被氧化为具有亚砷结构的 sulfoxythiocoraline (30) 时, 其抗肿瘤活性进一步降低 ( $\text{EC}_{50}=1.26 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[40]</sup>。由此推测, 空间效应, 尤其是电子效应能显著改变噻可拉林的抗肿瘤活性。此外, lobophorin C (33) ( $\text{R}=\text{NO}_2$ ,  $\text{IC}_{50}=7.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和 D (34) ( $\text{R}=\text{NH}_2$ ,  $\text{IC}_{50}=61.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 由于取代基、立体构型等的不同, 它们对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 的抑制作用也截然不同<sup>[41]</sup>, 表明这些化合物生物活性与其化学结构之间存在着明显的依赖关系。

## 6 研究方法和手段的概况

近年来, 从动物来源放线菌的次级代谢产物中寻找具有生物活性先导化合物的研究中, 除了传统的途径外, 还采用了一些新的方法和手段。例如, 通过对次级代谢产物生物合成途径中标志性基因片段进行筛查<sup>[19, 58]</sup>, 从而寻找能够产生特定结构化合物的菌株, 并结合液相色谱—质谱联用的方法, 获得目标化合物, 以及通过与目标致病菌共同孵育培养的方法来激活沉默基因, 进而获得具有特定生物活性的次级代谢产物<sup>[20]</sup>。此外, 从动物-细菌共同体这种特定环境中去寻找特定的菌株<sup>[27, 28, 34, 56]</sup>, 也得到一些具有较好生物活性和新颖结构的化合物。

## 7 总结与展望

动物来源的放线菌资源丰富, 数量繁多, 其次级代谢产物大多为氮杂环、芳香类和环肽类化合物, 结构骨架变化较大。从宿主来看, 由于海绵<sup>[59, 60]</sup>、珊瑚<sup>[61, 62]</sup>、蚯蚓<sup>[63, 64]</sup>等具有独特的生活习性和药用价值<sup>[65]</sup>, 长期以来都是研究的热点。在这些研究中, 蚂蚁<sup>[66]</sup>、蚯蚓等昆虫由于携带不同菌群的机会较高, 相关的文献报道更多一些。近年来, 由于大象<sup>[14]</sup>、企鹅<sup>[67]</sup>等高等动物的肠道细菌易于从它们的粪便中分离培养, 且种类丰富, 其次级代谢产物具有毒性低、抗菌谱窄、活性强等特点, 已成为新的热点。

共生细菌寄生于动物的体表或者体内, 在与动物和谐共存的过程中, 构建了一个完整的微生态环境, 共同维持生态的平衡。动物为细菌提供了生存的环境和养分, 细菌则分泌众多次级代谢产物, 帮助宿主抵抗病原菌的侵袭和繁殖。动物-细菌共生体因而成为自然界中一个特殊而稳定的生态微环境。在这一环境下生存的放线菌, 其产生的次级代谢产物

不仅在抗菌方面表现突出, 在抗肿瘤、病毒以及寄生虫等方面也表现出巨大潜力。随着耐药性病原微生物的不断出现, 有关动物来源放线菌次级代谢产物及其生物活性的研究将变得越来越重要。这一领域虽然起步较晚, 但发展迅速, 显示了极好的开发和应用前景。

## References

- [1] Yin J, Straight PD, Hrvatin S, et al. Genome-wide high-throughput mining of natural-product biosynthetic gene clusters by phage display [J]. *Chem Biol*, 2007, 14: 303–312.
- [2] Subramani R, Aalbersberg W. Marine actinomycetes: an ongoing source of novel bioactive metabolites [J]. *Microbiol Res*, 2012, 167: 571–580.
- [3] Ikeda H. Natural products discovery from micro-organisms in the post-genome era [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2017, 81: 13–22.
- [4] Costello EK, Lauber CL, Hamady M, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time [J]. *Science*, 2009, 326: 1694–1697.
- [5] Kitahara M, Tsuchida S, Kawasumi K, et al. *Bacteroides chinchillae* sp. nov. and *Bacteroides rodentium* sp. nov., isolated from chinchilla (*Chinchilla lanigera*) faeces. [J]. *Int J Syst Evol Micr I*, 2011, 61: 877–881.
- [6] Morotomi M, Nagai F, Watanabe Y. Description of *Christensenella minuta* gen. nov., sp. nov., isolated from human faeces, which forms a distinct branch in the order *Clostridiales*, and proposal of *Christensenella ceae* fam. nov. [J]. *Int J Syst Evol Micr*, 2012, 62: 144–149.
- [7] Liu KL, Wang JQ, Bu DP, et al. Advances in diversity and functionality of human gut microflora [J]. *Acta Ecol Sin (生态学报)*, 2009, 29: 2589–2594.
- [8] Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine [J]. *Cell*, 2006, 124: 837–848.
- [9] Sun YY, Jia XH. Prospect of research on animal intestinal actinomycetes [J]. *Tianjin Agric Sci (天津农业科学)*, 2014, (07): 25–28.
- [10] Jiang Y, Cao YR, Han L, et al. Diversity and bioactivity of culturable actinobacteria from animal feces [J]. *Acta Microbiol Sin (微生物学报)*, 2012, 52: 1282–1289.
- [11] Zhang M, Fan XB, Hang XM, et al. Distribution of youth intestinal flora and analysis of key probiotics community [J]. *Acta Microbiol Sin (微生物学报)*, 2004, 44: 621–626.
- [12] Ma QY, Ren JS, Shi HP. Isolation and identification of intestinal flora in giant panda [J]. *Beijing Agric (北京农业)*, 2009, (21): 56–57.
- [13] Greetham HL, Giffard C, Hutson RA, et al. Bacteriology of the Labrador dog gut: a cultural and genotypic approach [J]. *J Appl Microbiol*, 2002, 93: 640–646.
- [14] Ding N, Jiang Y, Han L, et al. Bafilomycins and odoriferous sesquiterpenoids from *Streptomyces albolongus* isolated from *Elephas maximus* Feces [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79: 799–805.
- [15] Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide [J]. *Science*, 2013, 342: 971–976.
- [16] Rea MC, Sit CS, Clayton E, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107: 9352–9357.
- [17] Zhao LP, Zhang CH, Fei N, et al. Research development in gut microbiota-targeted nutritional intervention of metabolic diseases [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol (中国食品学报)*, 2014, (01): 1–5.
- [18] Selvin J, Shanmughapriya S, Gandhimathi R, et al. Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardiopsis dassonvillei* MAD08 [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 83: 435–445.
- [19] Karupiah V, Li Y, Sun W, et al. Functional gene-based discovery of phenazines from the actinobacteria associated with marine sponges in the South China Sea [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99: 5939–5950.
- [20] Dashti Y, Grkovic T, Abdelmohsen UR, et al. Production of induced secondary metabolites by a co-culture of sponge-associated actinomycetes, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardiopsis* sp. RV163 [J]. *Mar Drugs*, 2014, 12: 3046–3059.
- [21] Ng YK, Hewavitharana AK, Webb R, et al. Developmental cycle and pharmaceutically relevant compounds of *Salinispora* actinobacteria isolated from Great Barrier Reef marine sponges [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97: 3097–3108.
- [22] Zhang XY, He F, Wang GH, et al. Diversity and antibacterial activity of culturable actinobacteria isolated from five species of the South China Sea gorgonian corals [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013, 29: 1107–1116.
- [23] Li J, Dong JD, Yang J, et al. Detection of polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase biosynthetic genes from antimicrobial coral-associated actinomycetes [J]. *Anton Leeuw Int J G*, 2014, 106: 623–635.
- [24] Nong X, Zhang X, Chen Y, et al. Alkaloids from gorgonian-derived *Streptomyces* sp. SCSGAA0009 and their antibacterial and antilarval activities [J]. *Acta Microbiol Sin (微生物学报)*, 2013, 53: 995–1000.

- [25] Matsui T, Tanaka J, Namihira T, et al. Antibiotics production by an actinomycete isolated from the termite gut [J]. *J Basic Microbiol*, 2012, 52: 731–735.
- [26] Mendes TD, Borges WS, Rodrigues A, et al. Anti-candida properties of urauchimycins from actinobacteria associated with *Trachymyrmex* ants [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 835081.
- [27] Oh DC, Poulsen M, Currie CR, et al. Dentigerumycin: a bacterial mediator of an ant-fungus symbiosis [J]. *Nat Chem Biol*, 2009, 5: 391–393.
- [28] Dangelo RA, de Souza DJ, Mendes TD, et al. Actinomycetes inhibit filamentous fungi from the cuticle of *Acromyrmex* leafcutter ants [J]. *J Basic Microbiol*, 2016, 56: 229–237.
- [29] Visser AA, Nobre T, Currie CR, et al. Exploring the potential for actinobacteria as defensive symbionts in fungus-growing termites [J]. *Microb Ecol*, 2012, 63: 975–985.
- [30] Chouvenec T, Efstathion CA, Elliott ML, et al. Extended disease resistance emerging from the faecal nest of a subterranean termite [J]. *Proc R Soc B*, 2013, 280: 20131885.
- [31] Lu YH, Li S, Zhou DX, et al. Isolation and identification of termitarium antagonistic actinomycetes BYC 01 and its active metabolites [J]. *Acta Microbiol Sin (微生物学报)*, 2014, 54: 754–759.
- [32] Madden AA, Grasseti A, Soriano JA, et al. Actinomycetes with antimicrobial activity isolated from paper wasp (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) nests [J]. *Environ Entomol*, 2013, 42: 703–710.
- [33] Kumar V, Bharti A, Gupta VK, et al. Actinomycetes from solitary wasp mud nest and swallow bird mud nest: isolation and screening for their antibacterial activity [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2012, 28: 871–880.
- [34] Oh DC, Poulsen M, Currie CR, et al. Sceliphrolactam, a polyene macrocyclic lactam from a wasp-associated *Streptomyces* sp. [J]. *Org Lett*, 2011, 13: 752–755.
- [35] Wang XJ, Yan SL, Min CL, et al. Isolation and antimicrobial activities of actinomycetes from vermicompost [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2015, 40: 614–618.
- [36] Jami M, Ghanbari M, Kneifel W, et al. Phylogenetic diversity and biological activity of culturable actinobacteria isolated from freshwater fish gut microbiota [J]. *Microbiol Res*, 2015, 175: 6–15.
- [37] Su H, McKelvey J, Rollins D, et al. Cultivable bacterial microbiota of northern bobwhite (*Colinus virginianus*): a new reservoir of antimicrobial resistance? [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e99826.
- [38] Tang Y, Wang Y, Wang Z, et al. Novel antimicrobial metabolites produced by Sika deer-associated *Actinomyces* sp. JN411010 [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27: 2183–2189.
- [39] Motohashi K, Takagi M, Shin-Ya K. Tetracenoquinocin and 5-iminoaranciamycin from a sponge-derived *Streptomyces* sp. Sp080513GE-26 [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73: 755–758.
- [40] Wyche TP, Hou Y, Braun D, et al. First natural analogs of the cytotoxic thiodepsipeptide thiocoraline A from a marine *Verrucosispora* sp. [J]. *J Org Chem*, 2011, 76: 6542–6547.
- [41] Kwon Y, Kim S, Shin Y, et al. A new benzofuran glycoside and indole alkaloids from a sponge-associated rare actinomycete, *Amycolatopsis* sp. [J]. *Mar Drugs*, 2014, 12: 2326–2340.
- [42] Wei R, Xi T, Li J, et al. Lobophorin C and D, new kijanimicin derivatives from a marine sponge-associated actinomycetal strain AZS17 [J]. *Mar Drugs*, 2011, 9: 359–368.
- [43] Khan ST, Komaki H, Motohashi K, et al. *Streptomyces* associated with a marine sponge *Haliclona* sp.; biosynthetic genes for secondary metabolites and products [J]. *Environ Microbiol*, 2011, 13: 391–403.
- [44] Vicente J, Stewart A, van Wagoner R, et al. Monacyclines, new angucyclinone metabolites isolated from *Streptomyces* sp. M7\_15 associated with the Puerto Rican sponge *Scopalina ruetzleri* [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13: 4682–4700.
- [45] Schneemann I, Kajahn I, Ohlendorf B, et al. Mayamycin, a cytotoxic polyketide from a *Streptomyces* strain isolated from the marine sponge *Halichondria panacea* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73: 1309–1312.
- [46] Shin H, Lee H, Lee J, et al. Violapyrones H and I, new cytotoxic compounds isolated from *Streptomyces* sp. associated with the marine starfish *Acanthaster planci* [J]. *Mar Drugs*, 2014, 12: 3283–3291.
- [47] Ye X, Anjum K, Song T, et al. A new curvularin glycoside and its cytotoxic and antibacterial analogues from marine actinomycete *Pseudonocardia* sp. HS7 [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30: 1156–1161.
- [48] Guo ZK, Wang T, Guo Y, et al. Cytotoxic angucyclines from *Amycolatopsis* sp. HCa1, a rare actinobacteria derived from *Oxya chinensis* [J]. *Planta Med*, 2011, 77: 2057–2060.
- [49] Kim SH, Ko H, Bang HS, et al. Coprismycins A and B, neuroprotective phenylpyridines from the dung beetle-associated bacterium, *Streptomyces* sp [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 5715–5718.
- [50] Lin Z, Marett L, Huguen RW, et al. Neuroactive diol and acyloloin metabolites from cone snail-associated bacteria [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 4867–4869.
- [51] Grkovic T, Abdelmohsen UR, Othman EM, et al. Two new antioxidant actinosporin analogues from the calcium alginate beads culture of sponge-associated *Actinokineospora* sp. strain EG49 [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 5089–5092.

- [52] Cheng C, MacIntyre L, Abdelmohsen UR, et al. Biodiversity, anti-trypanosomal activity screening, and metabolomic profiling of actinomycetes isolated from Mediterranean sponges [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e138528.
- [53] Tabares P, Pimentel-Elardo SM, Schirmeister T, et al. Anti-protease and immunomodulatory activities of bacteria associated with Caribbean sponges [J]. *Mar Biotechnol*, 2011, 13: 883–892.
- [54] Kim SH, Ko H, Bang HS, et al. Coprismycins A and B, neuroprotective phenylpyridines from the dung beetle-associated bacterium, *Streptomyces* sp. [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 5715–5718.
- [55] Park SH, Moon K, Bang HS, et al. Tripartilactam, a cyclobutane-bearing tricyclic lactam from a *Streptomyces* sp. in a dung beetle's brood ball [J]. *Org Lett*, 2012, 14: 1258–1261.
- [56] Oh DC, Scott JJ, Currie CR, et al. Mycangimycin, a polyene peroxide from a mutualist *Streptomyces* sp. [J]. *Org Lett*, 2009, 11: 633–636.
- [57] Scott JJ, Oh DC, Yuceer MC, et al. Bacterial protection of beetle-fungus mutualism [J]. *Science*, 2008, 322: 63.
- [58] Schneemann I, Wiese J, Kunz AL, et al. Genetic approach for the fast discovery of phenazine producing bacteria [J]. *Mar Drugs*, 2011, 9: 772–89.
- [59] Abdjul DB, Yamazaki H, Kanno S, et al. Haliclomadamine derivatives and 6-epi-monanchorin from the marine sponge *Halichondria panicea* collected at Iriomote island [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79: 1149–1154.
- [60] Dong Y, Liu W, Lei Y, et al. Effect of gelatin sponge with colloid silver on bone healing in infected cranial defects [J]. *Mat Sci Eng C*, 2016, 70: 371–377.
- [61] Hernandez-Zulueta J, Araya R, Vargas-Ponce O, et al. First deep screening of bacterial assemblages associated with corals of the Tropical Eastern Pacific [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2016, 92: fiw196.
- [62] Arrigoni R, Berumen ML, Chen CA, et al. Species delimitation in the reef coral genera *Echinophyllia* and *Oxypora* (Scleractinia, Lobophylliidae) with a description of two new species [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2016, 105: 146–159.
- [63] Selin-Rani S, Senthil-Nathan S, Thanigaivel A, et al. Toxicity and physiological effect of quercetin on generalist herbivore, *Spodoptera litura* Fab. and a non-target earthworm *Eisenia fetida* Savigny [J]. *Chemosphere*, 2016, 165: 257–267.
- [64] Engelmann P, Hayashi Y, Bodo K, et al. Phenotypic and functional characterization of earthworm coelomocyte subsets: linking light scatter-based cell typing and imaging of the sorted populations [J]. *Dev Comp Immunol*, 2016, 65: 41–52.
- [65] Hussain N, Singh A, Saha S, et al. Excellent N-fixing and P-solubilizing traits in earthworm gut-isolated bacteria: a vermicompost based assessment with vegetable market waste and rice straw feed mixtures [J]. *Bioresour Technol*, 2016, 222: 165–174.
- [66] O'Shea-Wheller TA, Wilson-Aggarwal DK, Edgley DE, et al. A social mechanism facilitates ant colony emigrations over different distances [J]. *J Exp Biol*, 2016, 219: 3439–3446.
- [67] Ivanova V, Laatsch H, Kolarova M, et al. Structure elucidation of a new natural diketopiperazine from a *Microbispora aerata* strain isolated from Livingston island, Antarctica [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27: 164–170.