表面活性素在药物开发中应用的研究进展

熊　毅[1]，段燕文[1,2,3]，朱湘成[1,2,3]*

（1. 中南大学湘雅国际转化医学联合研究院，湖南长沙 410013；2. 新药组合生物合成国家地方联合工程研究中心，湖南长沙 410205；3. 组合生物合成与天然产物药物湖南省工程研究中心，湖南长沙 410205）

摘要：表面活性素（surfactin，SF）是一种由芽孢杆菌产生的环状脂肽类生物表面活性剂，因具有优越的生物安全性、可降解性、细胞膜渗透性以及资源可持续性等特点，作为潜在的药物佐剂在生物医药产品研究领域得到了广泛应用。本综述系统介绍了 SF 的生物安全性、对细胞膜的作用机制以及近年来在医药领域的应用研究，着重阐述了 SF 作为佐剂在药物递送系统中的研究进展，并展望其临床应用前景。

关键词：生物表面活性剂；表面活性素；细胞膜渗透；药物辅助剂；药物递送

中图分类号：R945　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)01-0056-09

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.01.005

Research Progress on the Application of Surfactin in Drug Development

XIONG Yi[1], DUAN Yanwen[1,2,3], ZHU Xiangcheng[1,2,3]*

(*1. Xiangya International Academy of Translational Medicine, Central South University, Changsha 410013;*
2. National Engineering Research Center of Combinatorial Biosynthesis for Drug Discovery, Changsha 410205;
3. Hunan Engineering Research Center of Combinatorial Biosynthesis and Natural Product Drug Discovery, Changsha 410205)

ABSTRACT: Surfactin(SF) is a cyclic lipopeptide biosurfactant produced by *Bacillus*. Due to its superior biosafety, degradability, cell membrane permeability, and resource sustainability, it has been widely studied and applied in biomedical products as a potential drug adjuvant. In this review, biosafety, mechanism on cell membrane, and applications of SF in the field of pharmaceutical products in recent years are systematically introduced. Specially, the research progress of SF as an effective adjuvant in the development of drug delivery systems is described, and the prospect of its clinical application has been illustrated.

Key Words: biosurfactant; surfactin; cell membrane permeation; drug adjuvant; drug delivery

表面活性剂在药物剂型开发中一般作为药物佐剂，用于改善药物的溶解度、吸收性、分散性及稳定性等[1—2]。随着社会发展和人们对医药产品要求的不断提高，微生物来源的生物表面活性剂因其生物安全和可降解等绿色环保特性，已逐渐成为化学表面活性剂的天然替代品，并在医药产品的应用开发研究中备受青睐[3—4]。作为主要的生物表面活性剂之一，表面活性素（surfactin，SF）是从枯草芽孢杆菌中发现的由环状阴离子七肽（*L*-Glu/*L*-Leu/*D*-Leu/*L*-Val/*L*-Asp/*D*-Leu/*L*-Leu）和碳链长度为 12 的 β- 羟基脂肪酸组合而成的环状脂肽（图 1），表现出较低的临界胶束浓度（critical micelle concentration，CMC）[5—7]。虽然中国尚未批准 SF 成为正式的药用辅料，但日本钟化株式会社（Kaneka corporation）已将 SF 开发成符合欧盟标准的商业化产品，并已作为日本医药外用品和化妆品中的增效成分应用于市场[8]。SF 不仅具有兼容性、耐受性和稳定性好等生物表面活性剂的诸多优点[9]，还能

收稿日期：2021-03-17

作者简介：熊　毅(1995—)，男，博士研究生，专业方向：化学生物学与转化医学。

E-mail：yixin950818@163.com

通信作者：朱湘成(1978—)，男，博士，研究员，从事微生物天然产物药物的开发。

Tel：0731-82650539

E-mail：seanzhu@csu.edu.cn

有效增强细胞膜通透性，因此作为佐剂在药物开发，尤其是药物递送方面有较好的应用前景[10—15]。本综述系统介绍了 SF 的生物安全性、对细胞膜的作用机制以及近年来在医药领域的应用研究，着重阐述其作为佐剂在药物递送系统中的应用，并展望其临床应用前景。

1 SF 的安全性

体外溶血试验表明 SF 在小鼠血液中的有效浓度达到 40 ～ 60 mg/L 时会产生溶血毒性[16]，经静脉注射至小鼠体内时 SF 的 LD_{50} 高于 100 mg/kg。相比之下，SF 在口服时表现出较高的生物安全性，甚至可以作为乳化剂应用于食品生产和加工[17]。在骨髓微核试验中，SF 口服剂量高达 4 000 mg/kg 时仍未表现出对 ICR 雄性小鼠的遗传毒性；并且怀孕雌性小鼠在连续 12 d 口服 SF 500 mg/kg 后，母体中脑、脾、肾、肝脏和心脏等器官的相对质量未发生改变，也未观察到对胎儿的毒性和致畸性[18]。另一方面，在连续 28 d 灌胃给予大鼠 SF 500 mg/kg 的毒理试验中，毒性体征、病理检查、血液生化指标等均未观察到异常变化。但当 SF 口服剂量增加到 1 000 或 2 000 mg/kg 时，与空白对照组相比，给药组大鼠的肝脏出现一定的损伤，主要表现为肝静脉周围的肝细胞可见剂量依赖性的带状坏死，相对肝重增加，谷丙转氨酶、谷草转氨酶和碱性磷酸酶（ALP）水平均显著升高，体质量减轻明显。即便如此，在 28 d 的试验周期中，SF 的所有剂量组中均未出现动物死亡现象，且没有观察到大鼠行为异常和中毒表现[19]。此外，SF 对皮肤的刺激性远低于化妆品中常用的氨基酸型表面活性剂月桂酰谷氨酸钠，并且在浓度 2.5%的情况下检测不到 SF 的皮肤刺激性[20]。

2 SF 的功效

研究表明，SF 具有抗菌、抗黏附、抗病毒、抗支原体、抗炎及抗肿瘤等多种生物活性[21—24]。例如 SF 对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌等革兰阳性菌，以及屎肠球菌和大肠埃希菌等革兰阴性菌均表现出一定的抗菌活性；并且 SF 在 2.5 mg/ml 时对表皮葡萄球菌的抗黏附抑制率可达 64%，而在 5 mg/ml 时可以抑制其 80%的生物膜形成[21]。SF 对不同肿瘤细胞也具有潜在的抑制作用，例如与慢性粒细胞白血病（K562）细胞孵育 24 ～ 48 h 的 IC_{50} 值为 10 ～ 20 μmol/L[9,25]。此外，ZHANG 等表明 SF 在细菌脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）刺激的巨噬细胞中可以抑制 NF-κB 信号通路，对 LPS 诱

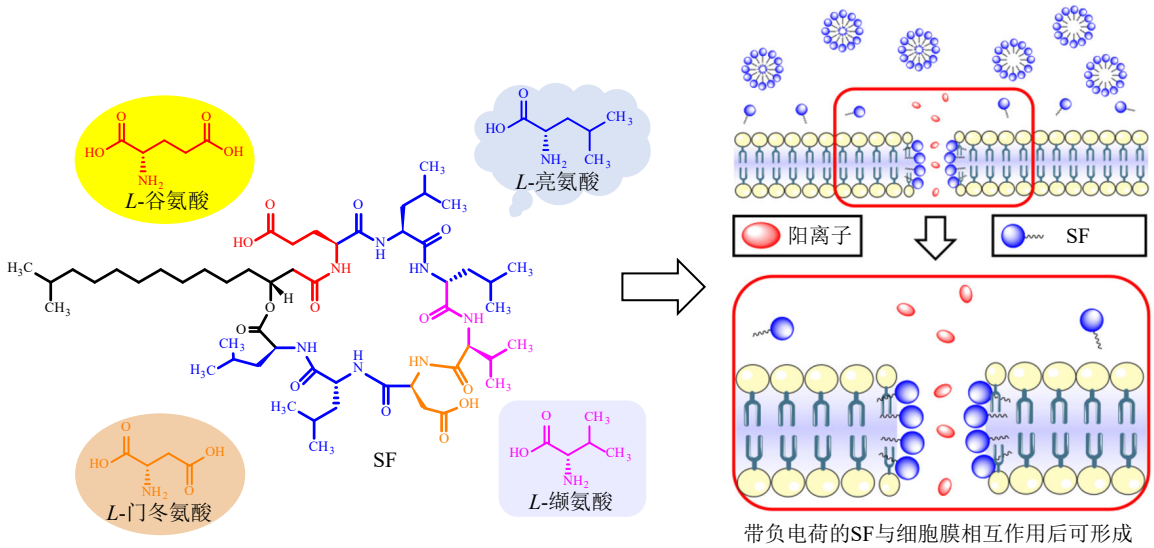


图 1 SF 的结构及其与细胞膜相互作用的示意图

Fig.1 Structure of SF and a Schematic Diagram of Interaction between SF and Cell Membrane

导产生的一系列炎性细胞因子［γ 干扰素（IFN-γ）、白介素 -6（IL-6）和一氧化氮合酶（NOS）等］具有明显的剂量依赖性下调作用[26]。基于原发性皮肤刺激及细胞毒性的试验表明，SF 不仅具有较低的皮肤刺激性，还能减少其他成分的刺激作用；在 3D 皮肤模型试验中，SF 不会引起过敏反应或其他毒性反应，并能提高水溶性成分的皮肤渗透性，表现出抗炎、保湿和递送等功效，适用于医药外用品等领域[20]。

3　SF 对细胞膜的作用

作为一种带负电荷的强效表面活性剂，SF 与细胞膜相互作用可以诱导脂质双分子层穿孔并形成离子通道（图 1），破坏膜的完整性，促进药物的渗透并保持其稳定性[27]。SF 对细胞膜的影响呈浓度依赖性：低浓度（3 μmol/L）SF 通过渗透进入细胞膜并在磷脂层中形成可混溶的胶束；接近 CMC（15 μmol/L）的中等浓度 SF 可促使膜分离并诱导磷脂层穿孔和离子通道形成；远大于 CMC 的高浓度 SF 会溶解磷脂层并完全破坏细胞膜[28—29]。

SF 对细胞膜的作用与其分子结构密切相关。研究表明，脂质膜对 SF 及其类似物的敏感性主要取决于脂肪酸酰基链的组成和长度，以及极性环肽区域的氨基酸组成和电荷[29—31]。有研究比较了开环的线性多肽的 SF 衍生物，结果表明大体积的环肽基团是 SF 增强细胞膜通透性的先决条件[32—33]。SHEPPARD 等在平面脂质双层膜模型中证明了 SF 可以诱导阳离子通道形成，导致细胞膜通透性的变化[34]。同时 SF 还是一种可转运离子的载体，能在膜上转运单价和二价阳离子，且对二价阳离子的传输效率更高，可导致渗透平衡的扰动并调节单价和二价阳离子在细胞膜上的通量[35]。因此 SF 可以与带阳离子的物质联用，最终形成单层包含阳离子的胶束或双层包含阳离子的囊泡。此外，SF 还能通过与细胞膜的脂类相互作用来抑制肿瘤细胞的生长和转移[36—37]，表现出一定的对肿瘤细胞的选择性毒性。这可能是因为肿瘤细胞的细胞膜中胆固醇和磷脂含量比正常细胞高[37—39]。SF 能够影响细胞膜结构的完整性和稳定性，进而通过增加细胞膜的通透性以促进药物分子的摄入，因此可作为一种潜在的药物佐剂进行应用开发。

4　SF 对生物膜的作用

生物膜是一些微生物附着在表面或细胞外基质中有组织生长的结构性细菌聚集群落，能够帮助其抵御环境的压力和攻击[40]。生物膜的成分以脂类和蛋白为主，它是耐药菌抵抗常规抗菌药的主要手段之一。SF 能与细菌生物膜相互作用，破坏其结构，因此可作为潜在的抗菌剂或抗菌佐剂。RIVARDO 等报道 SF 及其衍生物具有较好的抗黏附活性和破坏生物膜的能力，能够抑制金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的生物膜形成，使生物膜分别减少了 97% 和 90%[41]。LIU 等研究表明 SF 对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度（MIC）和最小杀菌浓度（MBC）分别为 32 和 128 mg/L，而且 SF 在 0.25 倍 MIC 浓度时便表现出明显的抗生物膜活性，在 MIC 浓度下可抑制 80% 的生物膜形成[42]。进一步的机制研究表明，SF 通过显著下调生物膜形成所必需的细胞间黏附素的生物合成基因 *icaA* 和 *icaD* 的表达，降低了生物膜多糖，尤其是碱溶性多糖的产量；而且 SF 还可以通过调节自动诱导因子的活性来影响金黄色葡萄球菌的群体感应系统，抑制生物膜的形成。

虽然 SF 本身并不能直接杀死大肠埃希菌生物膜中的黏附细胞，但它可以显著提高氨苄西林或头孢类抗菌药的杀灭效果，而且还能提高阿莫西林对禽致病性大肠埃希菌的体外抗菌活性以及在雏鸡感染模型中的治疗效果[43—44]。此外，SF 及其与二价金属离子（如钙、镁、铜和锌等）形成的复合物均可以降低病原真菌白念珠菌中与菌丝发育相关特定基因的转录，使细胞的表面疏水性和成熟生物膜的代谢活性降低，抑制白念珠菌生物膜的形成[45]。负载了 SF 的聚乙烯醇（PVA）纳米纤维不仅能降低纳米纤维直径、增加表面粗糙度，还能显著降低病原菌单核细胞增生李斯特菌的黏附，可用于伤口敷料或修复装置的涂层中，防止生物膜的形成和继发感染[46]。最新研究还表明，在上皮细胞模型中，低质量浓度范围（15 ～ 50 mg/L）的 SF 还能作为天然的楔形脂质膜融合抑制剂，减少猪流行性腹泻病

毒和传播性胃肠炎病毒的增殖，因而其作为药物佐剂在抗病毒药物的开发中也颇具潜力[47]。

5 SF 作为新型药物佐剂的开发研究

SF 可以通过其非极性侧链渗透到蛋白质中，形成能促进蛋白质稳定的非共价复合物[48]，因此可用于口服药物和免疫疫苗佐剂的开发。在小鼠的肌内或皮下注射免疫模型中，SF 并不会引起自身免疫反应，但与卵清蛋白（OVA）抗原混合后使用则有助于诱导持久的体液和细胞免疫反应，显著增强 OVA 的免疫应答；而且体外试验结果初步揭示，SF 在进入抗原呈递细胞如小鼠单核巨噬细胞（RAW 264.7）后，不仅可以诱导活性氧（ROS）的积累以及细胞表面标志物和细胞因子的表达增加，还很可能通过与其中的 Toll 样受体 2（TLR-2）结合发挥其佐剂活性（图 2）[49]。

进一步的机制研究表明，SF 不仅可以刺激肥大细胞释放颗粒和组胺，还能上调肿瘤坏死因子（TNF）、趋化因子受体（CCR5）和白介素（IL-4）等细胞因子的 mRNA 表达水平，因此肥大细胞的活化也可能与 SF 的免疫佐剂作用有关[50]。另外，SF 还可保护 OVA 等蛋白抗原免受胃肠道中胰蛋白酶和胃蛋白酶的水解，改善肠道上皮细胞对 OVA 抗原的摄取[51]。

1 型糖尿病是一种胰岛素依赖性的自身免疫性疾病。胰岛素相对分子质量大且缺乏亲脂性，通过口服方式递送时需要克服胃酸破坏、跨膜渗透性差以及谷氨酸转肽酶水解等问题，因此生物利用度较低[52—53]。有研究报道，在非肥胖型糖尿病小鼠模型中，口服 SF 可非特异性地降低 1 型糖尿病的发生率[54]。此外，SF 中疏水性的氨基酸残基和脂肪链对胰岛素渗透入肠上皮细胞起重要作用。SF 特殊的“马鞍形”拓扑结构有利于其与胰岛素和细胞膜之间发生静电相互作用，扰乱细胞膜的结构、帮助胰岛素进入细胞[28,55]。SF 作为一种有效的蛋白酶抑制剂和膜通透性增强剂，可以保护胰岛素免受谷氨酸转肽酶的酶解，有效改善胰岛素在糖尿病小鼠肠道中的摄取[56—57]。进一步研究还显示，用疏水性更强的氨基酸取代后获得的 SF 衍生物在提高口服胰岛素的递送能力和生物利用度等方面具有更大的潜力。

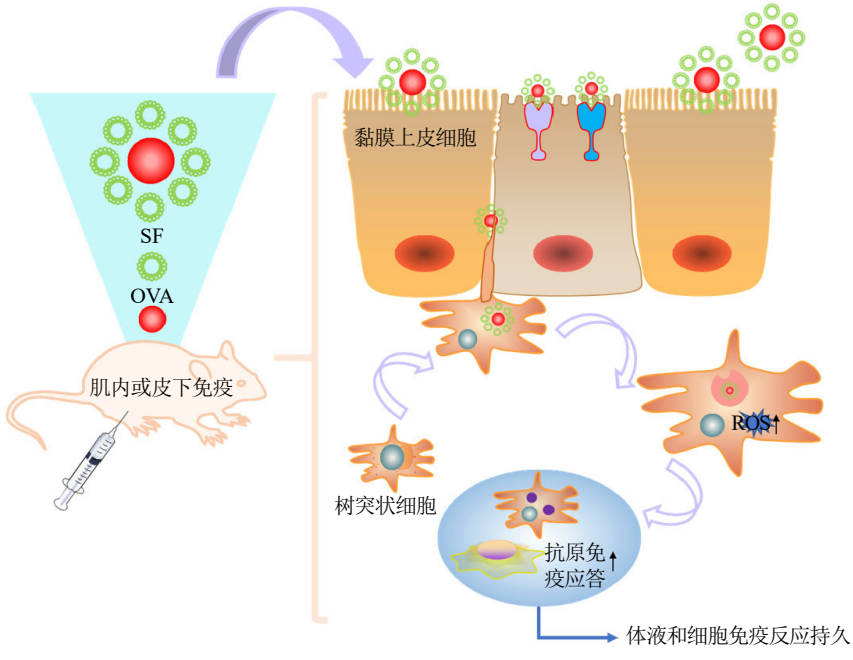


图 2 SF 和 OVA 抗原混合物增强免疫应答的示意图

Fig.2 A Schematic Diagram of Immune Response Enhanced by Mixture of SF and OVA Antigens

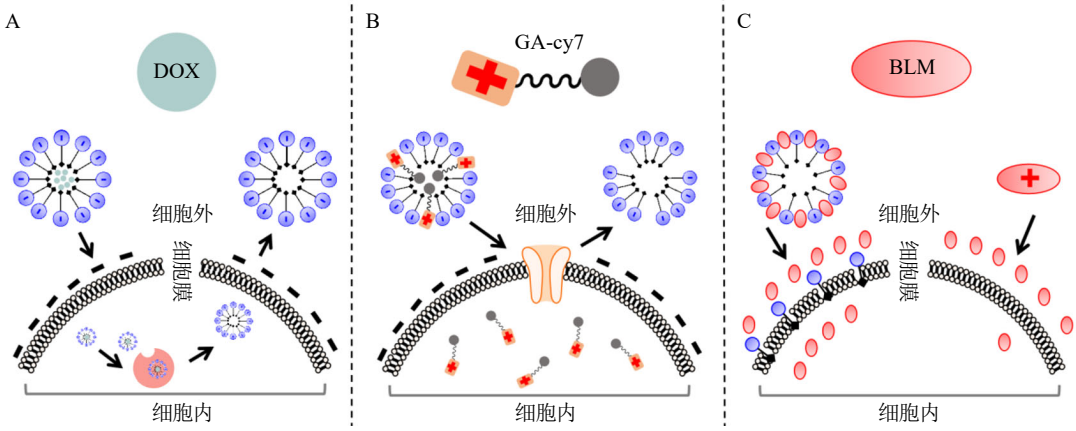
另一方面，SF 还能作为合成金属纳米颗粒的环保型稳定剂和封端剂以改善材料特性[58]。金属纳米颗粒尤其是银纳米粒子（Ag-NP）已被广泛用作抗感染制剂[59]，而用 SF 稳定的 Ag-NP 对铜绿假单胞菌感染的糖尿病小鼠的伤口治愈率接近 98%，还可以中和铜绿假单胞菌脂多糖对伤口处皮肤的毒性作用及降低炎症反应，为治疗革兰阴性菌感染提供了新思路[60]。

6　SF 在药物纳米递送体系中的应用

近年来纳米药物递送技术飞速发展，SF 在纳米给药系统中也显示出巨大的应用潜力。作为细胞膜上的主要转运蛋白之一，P- 糖蛋白的高表达是导致肿瘤细胞对抗肿瘤药产生耐药性的重要因素。最近，有研究者成功开发了 SF 与化疗药多柔比星（doxorubicin，DOX）的偶联物（SF-DOX）（图 3A）。与游离 DOX 相比，SF-DOX 能抑制 P- 糖蛋白表达，并在耐受 DOX 的人乳腺癌（MCF-7/ADR）细胞中展现出增强细胞摄取和降低细胞外排的作用，有效逆转了 MCF-7/ADR 细胞的耐药性。进一步的体内研究表明，SF-DOX 在肿瘤组织中的蓄积能力强于游离 DOX，并且在荷 MCF-7/ADR 瘤裸鼠中表现出更优异的肿瘤抑制活性和较小的毒性[61]。

将抗肿瘤药藤黄酸（gambogic acid，GA）与具有缺氧靶向性的近红外荧光染料七甲川菁（heptamethine carbocyanine dye，Cy7）共价键合，可得到带有正电荷的 GA-Cy7 复合物，再与带负电荷的 SF 在水溶液中自组装，可获得一种以 SF 为主体、嵌入 Cy7 基团的镶嵌型纳米药物系统 GA-Cy7-NP。该系统可以不通过粒子内吞作用入胞，并能选择性地将负载的 GA-Cy7 复合物释放到缺氧的肿瘤细胞中（图 3B）。对人前列腺癌（PC3）细胞的体外试验以及异位荷瘤小鼠的体内试验表明，与游离 GA 或 GA-Cy7 复合物相比，GA-Cy7-NP 的选择性释放能增加肿瘤细胞中的药物分布，因而表现出更高的抗肿瘤活性。这一研究为 SF 作为纳米载体在抗肿瘤药物递送系统中的应用开发提供了新的视角和概念原型[62]。

此外，本课题组针对广谱抗肿瘤药博来霉素（bleomycin，BLM）细胞膜通透性差、易诱发剂量依赖性肺毒性的缺陷，利用 SF 能增强膜通透性的能力，将 SF 作为 BLM 的增效剂（图 3C）[63]。体外研究表明，SF 在 30 μmol/L 剂量（其本身对肿瘤细胞无毒）下可以改善 BLM 在多种肿瘤细胞中的摄入并显著提高抗肿瘤活性，而且对正常细胞无明显毒性。在小鼠黑色素瘤（A375）模型中，SF 可以在保持 BLM 对肿瘤治疗效果的前提下降低使用剂量，且对肺组织和皮肤无明显毒性。值得注意的是，阳离子多肽 BLM 和阴离子脂肽 SF 可以自组装形成



A：SF-DOX 偶联物，B：GA-cy7 复合物和 SF 自组装形成的纳米药物，C：阳离子多肽 BLM 和 SF 自组装形成的纳米胶束

图 3　载化疗药物的基于 SF 的自组装纳米颗粒或胶束

Fig.3　SF-based Self-assembly Nanoparticles or Micelles Loading Chemotherapeutic Drugs

复杂的纳米级胶束，这可能有助于增加 BLM 的细胞摄入和抗肿瘤作用。因此，SF 可能发挥增效剂和纳米递送的双重功效。

7 总结与展望

SF 作为一种具有较好生物兼容性、生物可降解性、高效、低毒等特性的绿色环保生物表面活性剂，能促进伤口修复、改善皮肤通透性以及抑制生物膜形成，被广泛应用于医药外用品中，而且在口服药物递送系统中也具有潜在的应用价值。SF 独特的脂肽结构和较强的表面活性使其能与细胞膜产生密切的作用，从而赋予了 SF 多样的生物活性。SF 对膜的扰动特性不仅能增强细胞膜的通透性，还能破坏或抑制生物膜的形成，因而可作为一种潜在的药物佐剂来增强抗菌药的疗效，或者作为免疫佐剂来增强抗原的免疫应答。此外，SF 在增加药物的抗肿瘤活性和逆转肿瘤细胞的耐药性等方面也有明显效果，而且带负电荷的 SF 很容易自组装成具有不同形状（包括球形、椭圆形和圆柱形等）的非均质胶束。由此可见，SF 的应用为皮肤的局部感染性疾病以及恶性肿瘤的治疗提供了新颖的思路[64—65]。

随着生物技术的快速发展，已发现了越来越多微生物来源的 SF 类似物，这些在氨基酸组成和脂肪酸支链长度上有差异的脂肽分子在对各类病原微生物的活性上大相径庭，这为人们有针对性地开发 SF 衍生物创造了条件。例如，2017 年从枯草芽孢杆菌 CAU21 中分离得到一个 SF 类似物 bacaucin，它的开环七肽 bacaucin-1 通过膜破坏机制对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌显示出特异性抗菌活性，而对哺乳动物细胞无明显毒性[66]。该团队随后以 bacaucin-1 为原型合成了一系列线性抗菌肽并成功发现了 SLAP-S25，它可以通过与革兰阴性菌外膜的脂多糖和细胞质膜的磷脂酰甘油结合而触发膜损伤，发挥协同作用来增强多种抗菌药对多重耐药革兰阴性病原菌的活性，并且在不同动物模型中均有效提高了多黏菌素对耐碳青霉烯和多黏菌素大肠埃希菌的治疗效果[67]。因此，基于 SF 及其衍生物来开发药物佐剂和递送系统，将有可能增强现有抗菌药的适用范围和功效，为应对感染性疾病和恶性肿瘤等全球性重大健康威胁提供有效的解决策略。

参考文献：

[1] MARTOS A, KOCH W, JISKOOT W, *et al*. Trends on analytical characterization of polysorbates and their degradation products in biopharmaceutical formulations [J]. *J Pharm Sci*, 2017, **106**(7): 1722-1735.

[2] 杜 靓, 王 伟, 孙晓丽. 表面活性剂在药学中的应用[J]. 疾病监测与控制, 2011, **5**(5): 280-282.

[3] SINGH P, PATIL Y, RALE V. Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies [J]. *J Appl Microbiol*, 2019, **126**(1): 2-13.

[4] JAHAN R, BODRATTI A M, TSIANOU M, *et al*. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: physicochemical properties and applications [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2020, **275**: 102061.

[5] MULLIGAN C N. Environmental applications for biosurfactants [J]. *Environ Pollut*, 2005, **133**(2): 183-198.

[6] GUDINA E J, RANGARAJAN V, SEN R, *et al*. Potential therapeutic applications of biosurfactants [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, **34**(12): 667-675.

[7] CARRILLO C, TERUEL J A, ARANDA F J, *et al*. Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1611**(1/2): 91-97.

[8] Kaneka. Approved by Ecocert [EB/OL]. https://www.kaneka.co.jp/business/qualityoflife/nbd_002.html.

[9] WU Y S, NGAI S C, GOH B H, *et al*. Anticancer activities of surfactin and potential application of nanotechnology assisted surfactin delivery [J]. *Front Pharmacol*, 2017, **8**: 761.

[10] INES M, DHOUHA G. Lipopeptide surfactants: production, recovery and pore forming capacity [J]. *Peptides*, 2015, **71**: 100-112.

[11] ZHI Y, WU Q, XU Y. Genome and transcriptome analysis of surfactin biosynthesis in *Bacillus amyloliquefaciens* MT45 [J]. *Sci Rep*, 2017, **7**: 40976.

[12] KIM K M, LEE J Y, KIM C K, *et al*. Isolation and characterization of surfactin produced by *Bacillus*

polyfermenticus KJS-2 [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, **32**(5): 711-715.

[13] NAUGHTON P J, MARCHANT R, NAUGHTON V, *et al*. Microbial biosurfactants: current trends and applications in agricultural and biomedical industries [J]. *J Appl Microbiol*, 2019, **127**(1): 12-28.

[14] SEYDLOVA G, SVOBODOVA J. Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications [J]. *Cent Eur J Med*, 2008, **3**(2): 123-133.

[15] MNIF I, GHRIBI D. Review lipopeptides biosurfactants: mean classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications [J]. *Biopolymers*, 2015, **104**(3): 129-147.

[16] 汪文静, 孙力军, 王雅玲. 生物表面活性素Surfactin的毒性研究进展[C]// 热带海洋科学学术研讨会暨第八届广东海洋湖沼学会、第七届广东海洋学会会员代表大会论文及摘要汇编. 湛江：广东海洋湖沼学会, 广东海洋学会, 中国海洋学会热带海洋分会, 2013.

[17] SANTOS V S V, SILVEIRA E, PEREIRA B B. Toxicity and applications of surfactin for health and environmental biotechnology [J]. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2018, **21**(6-8): 382-399.

[18] HWANG Y H, PARK B K, LIM J H, *et al*. Evaluation of genetic and developmental toxicity of surfactin C from *Bacillus subtilis* BC1212 [J]. *J Health Sci*, 2008, **54764**(1): 101-106.

[19] HWANG Y H, KIM M S, SONG I B, *et al*. Subacute (28 day) toxicity of surfactin C, a lipopeptide produced by *Bacillus subtilis*, in rats [J]. *J Health Sci*, 2009, **55**(3): 351-355.

[20] 邹清青, 欧阳琛璨, 堀川贵生, 等. 具有环状肽结构的生物表面活性剂——枯草菌脂肽钠[J]. 中国洗涤用品工业, 2016, **180**(2): 50-54.

[21] ABDELLI F, JARDAK M, ELLOUMI J, *et al*. Antibacterial, anti-adherent and cytotoxic activities of surfactin(s) from a lipolytic strain *Bacillus safensis* F4 [J]. *Biodegradation*, 2019, **30**(4): 287-300.

[22] YUAN L F, ZHANG S, PENG J, *et al*. Synthetic surfactin analogues have improved anti-PEDV properties [J]. *PLoS One*, 2019, **14**(4): e0215227.

[23] NIR-PAZ R, PREVOST M C, NICOLAS P, *et al*. Susceptibilities of mycoplasma fermentans and mycoplasma hyorhinis to membrane-active peptides and enrofloxacin in human tissue cell cultures [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, **46**(5): 1218-1225.

[24] WANG C L, NG T B, CAO X H, *et al*. CLP induces apoptosis in human leukemia K562 cells through Ca^{2+} regulating extracellular-related protein kinase ERK activation [J]. *Cancer Lett*, 2009, **276**(2): 221-227.

[25] WANG C L, NG T B, YUAN F, *et al*. Induction of apoptosis in human leukemia K562 cells by cyclic lipopeptide from *Bacillus subtilis* natto T-2 [J]. *Peptides*, 2007, **28**(7): 1344-1350.

[26] ZHANG Y Y, LIU C, DONG B, *et al*. Anti-inflammatory activity and mechanism of surfactin in lipopolysaccharide-activated macrophages [J]. *Inflammation*, 2015, **38**(2): 756-764.

[27] BERNHEIMER A W, AVIGAD L S. Nature and properties of a cytolytic agent produced by *Bacillus subtilis* [J]. *J Gen Microbiol*, 1970, **61**(3): 361-369.

[28] LIU J, ZOU A H, MU B Z. Toluidine blue: aggregation properties and distribution behavior in surfactin micelle solution [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, **75**(2): 496-500.

[29] DELEU M, LORENT J, LINS L, *et al*. Effects of surfactin on membrane models displaying lipid phase separation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1828**(2): 801-815.

[30] KELL H, HOLZWARTH J F, BOETTCHER C, *et al*. Physicochemical studies of the interaction of the lipoheptapeptide surfactin with lipid bilayers of *L*-alpha-dimyristoyl phosphatidylcholine [J]. *Biophys Chem*, 2007, **128**(2/3): 114-124.

[31] BUCHOUX S, LAI-KEE-HIM J, GARNIER M, *et al*. Surfactin-triggered small vesicle formation of negatively charged membranes: a novel membrane-lysis mechanism [J]. *Biophys J*, 2008, **95**(8): 3840-3849.

[32] DUFOUR S, DELEU M, NOTT K, *et al*. Hemolytic activity of new linear surfactin analogs in relation to their physico-chemical properties [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, **1726**(1): 87-95.

[33] HEERKLOTZ H, SEELIG J. Leakage and lysis of lipid membranes induced by the lipopeptide surfactin [J]. *Eur Biophys J*, 2007, **36**(4/5): 305-314.

[34] SHEPPARD J D, JUMARIE C, COOPER D G, *et al*. Ionic channels induced by surfactin in planar lipid bilayer membranes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1991, **1064**(1): 13-

23.

[35] THIMON L, PEYPOUX F, MAGET-DANA R, *et al*. Interactions of bioactive lipopeptides, iturin A and surfactin from *Bacillus subtilis* [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 1992, **16**(2): 144-151.

[36] PARK S Y, KIM J H, LEE Y J, *et al*. Surfactin suppresses TPA-induced breast cancer cell invasion through the inhibition of MMP-9 expression [J]. *Int J Oncol*, 2013, **42**(1): 287-296.

[37] LIU X Y, TAO X Y, ZOU A H, *et al*. Effect of the microbial lipopeptide on tumor cell lines: apoptosis induced by disturbing the fatty acid composition of cell membrane [J]. *Protein Cell*, 2010, **1**(6): 584-594.

[38] CAO X H, LIAO Z Y, WANG C L, *et al*. Evaluation of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus natto* TK-1 as a potential source of anti-adhesive, antimicrobial and antitumor activities [J]. *Braz J Microbiol*, 2009, **40**(2): 373-379.

[39] HILVO M, DENKERT C, LEHTINEN L, *et al*. Novel theranostic opportunities offered by characterization of altered membrane lipid metabolism in breast cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2011, **71**(9): 3236-3245.

[40] ROY R, TIWARI M, DONELLI G, *et al*. Strategies for combating bacterial biofilms: a focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action [J]. *Virulence*, 2018, **9**(1): 522-554.

[41] RIVARDO F, TURNER R J, ALLEGRONE G, *et al*. Anti-adhesion activity of two biosurfactants produced by *Bacillus spp*. prevents biofilm formation of human bacterial pathogens [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, **83**(3): 541-553.

[42] LIU J, LI W, ZHU X Y, *et al*. Surfactin effectively inhibits *Staphylococcus aureus* adhesion and biofilm formation on surfaces [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, **103**(11): 4565-4574.

[43] RIVARDO F, MARTINOTTI M G, TURNER R J, *et al*. Synergistic effect of lipopeptide biosurfactant with antibiotics against *Escherichia coli* CFT073 biofilm [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2011, **37**(4): 324-331.

[44] LIU J X, WANG X, SHI W Q, *et al*. Sensitization of avian pathogenic *Escherichia coli* to amoxicillin *in vitro* and *in vivo* in the presence of surfactin [J]. *PLoS One*, 2019, **14**(9): e0222413.

[45] JANEK T, DRZYMALA K, DOBROWOLSKI A. *In vitro* efficacy of the lipopeptide biosurfactant surfactin-C15 and its complexes with divalent counterions to inhibit *Candida albicans* biofilm and hyphal formation [J]. *Biofouling*, 2020, **36**(2): 210-221.

[46] AHIRE J J, ROBERTSON D D, REENEN A J V, *et al*. Surfactin-loaded polyvinyl alcohol (PVA) nanofibers alters adhesion of *Listeria monocytogenes* to polystyrene [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, **77**: 27-33.

[47] YUAN L F, ZHANG S, WANG Y H, *et al*. Surfactin inhibits membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses [J]. *J Virol*, 2018, **92**(21): e00809-e00818.

[48] ZOU A H, LIU J, GARAMUS V M, *et al*. Micellization activity of the natural lipopeptide [Glu1, Asp5] surfactin-C15 in aqueous solution [J]. *J Phys Chem B*, 2010, **114**(8): 2712-2718.

[49] GAO Z Q, WANG S Y, QI G F, *et al*. A surfactin cyclopeptide of WH1fungin used as a novel adjuvant for intramuscular and subcutaneous immunization in mice [J]. *Peptides*, 2012, **38**(1): 163-171.

[50] YOSHINO N, TAKESHITA R, KAWAMURA H, *et al*. Mast cells partially contribute to mucosal adjuvanticity of surfactin in mice [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2018, **6**(1): 117-127.

[51] GAO Z Q, ZHAO X Y, LEE S, *et al*. WH1fungin a surfactin cyclic lipopeptide is a novel oral immunoadjuvant [J]. *Vaccine*, 2013, **31**(26): 2796-2803.

[52] MANSOURPOUR M, MAHJUB R, AMINI M, *et al*. Development of acid-resistant alginate/trimethyl chitosan nanoparticles containing cationic beta-cyclodextrin polymers for insulin oral delivery [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2015, **16**(4): 952-962.

[53] SAJEESH S, BOUCHEMAL K, MARSAUD V, *et al*. Cyclodextrin complexed insulin encapsulated hydrogel microparticles: an oral delivery system for insulin [J]. *J Control Release*, 2010, **147**(3): 377-384.

[54] GAO Z Q, ZHAO X Y, YANG T, *et al*. Immunomodulation therapy of diabetes by oral administration of a surfactin lipopeptide in NOD mice [J]. *Vaccine*, 2014, **32**(50): 6812-6819.

[55] LIU J, ZOU A H, MU B Z. Surfactin effect on the physicochemical property of PC liposome [J]. *Colloids Surf A*, 2010, **361**(1-3): 90-95.

[56] ZHANG L, GAO Z Q, ZHAO X Y, *et al*. A natural lipopeptide of surfactin for oral delivery of insulin [J]. *Drug Deliv*, 2016, **23**(6): 2084-2093.

[57] ZHANG L, XING X Y, DING J, *et al*. Surfactin variants for intra-intestinal delivery of insulin [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, **115**: 218-228.

[58] SINGH B R, DWIVEDI S, AL-KHEDHAIRY A A, *et al*. Synthesis of stable cadmium sulfide nanoparticles using surfactin produced by *Bacillus amyloliquifaciens* strain KSU-109 [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2011, **85**(2): 207-213.

[59] RAI M, YADAV A, GADE A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials [J]. *Biotechnol Adv*, 2009, **27**(1): 76-83.

[60] KRISHANAN N, VELRAMAR B, PANDIYAN R, *et al*. Anti-pseudomonal and anti-endotoxic effects of surfactin-stabilized biogenic silver nanocubes ameliorated wound repair in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, **46**(3): 488-499.

[61] HUANG W J, LANG Y, HAKEEM A, *et al*. Surfactin-based nanoparticles loaded with doxorubicin to overcome multidrug resistance in cancers [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, **13**: 1723-1736.

[62] WANG W W, LI X Y, WANG Z H, *et al*. A novel "mosaic-type" nanoparticle for selective drug release targeting hypoxic cancer cells [J]. *Nanoscale*, 2019, **11**(5): 2211-2222.

[63] XIONG Y, KONG J Q, YI S R, *et al*. Surfactin ameliorated the internalization and inhibitory performances of bleomycin family compounds in tumor cells [J]. *Mol Pharm*, 2020, **17**(6): 2125-2134.

[64] YAN L, LIU G W, ZHAO B, *et al*. Novel biomedical functions of surfactin a from *Bacillus subtilis* in wound healing promotion and scar inhibition [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, **68**(26): 6987-6997.

[65] DE ARAUJO L V, GUIMARAES C R, MARQUITA R L D S, *et al*. Rhamnolipid and surfactin: anti-adhesion/antibiofilm and antimicrobial effects [J]. *Food Control*, 2016, **63**: 171-178.

[66] LIU Y, DING S Y, DIETRICH R, *et al*. A Biosurfactant-inspired heptapeptide with improved specificity to kill MRSA [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, **56**(6): 1486-1490.

[67] SONG M R, LIU Y, HUANG X Y, *et al*. A broad-spectrum antibiotic adjuvant reverses multidrug-resistant Gram-negative pathogens [J]. *Nat Microbiol*, 2020, **5**(8): 1040-1050.