

黄花蒿内生真菌 SPS-02 的鉴定和次生代谢产物研究

朱双双, 汤逸飞, 阮川芬, 章华伟*

浙江工业大学药学院, 杭州 310014

摘要:以黄花蒿(*Artemisia annua* L.)来源的一株内生真菌 SPS-02 为研究对象,分别进行了拮抗试验、分类鉴定和次生代谢产物研究。通过形态和培养特征观察及系统发育树构建,菌株 SPS-02 确定为烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)。拮抗试验结果表明,菌株 SPS-02 能较强地抑制植物病原真菌。通过菌株 SPS-02 次生代谢研究,得到 4 个单体化合物(1~4),采用波谱技术确定为 bisdethiobis(methylthio)-gliotoxin(1)、*N*-(2,4-dihydroxybenzoyl)-*L*-Serine(2)、2,4-dihydroxybenzoic acid(3)、2*H*-Benzopyran-2,5(6*H*)-dione(4),其中化合物 1、3 和 4 具有较强的抑制白色念珠菌(*Candida albicans*),MIC 值分别为 0.90、2.08 和 1.98 μ M,并且化合物 1(胶霉毒素)产量较丰富,初始效价约为 15 mg/L,具有一定的应用价值。

关键词:黄花蒿;烟曲霉;内生真菌;次生代谢产物;胶霉毒素

中图分类号:Q939.5;O629.3

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.4.009

Identification and Secondary Metabolites of an Endophytic Fungus SPS-02 from *Artemisia annua* L.

ZHU Shuang-shuang, TANG Yi-fei, RUAN Chuan-fen, ZHANG Hua-wei*

School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China

Abstract: One endophytic strain, coded SPS-02, was isolated from healthy stem of *Artemisia annua* L. On the basis of morphological character, culturing property and phylogenetic tree, strain SPS-02 was classified as *Aspergillus fumigatus*. The antimicrobial evaluation indicated that strain SPS-02 had strong inhibitory effect on phytopathogenic fungi, especially *Alternaria alternata*. Four secondary metabolites were isolated and respectively identified as bisdethiobis(methylthio)-gliotoxin (1), *N*-(2,4-dihydroxybenzoyl)-*L*-serine (2), 2,4-dihydroxybenzoic acid (3), 2*H*-chromene-2,5(6*H*)-dione (4) using spectroscopic methods. Among these compounds, Compounds 1, 3 and 4 were shown to inhibit *Candida albicans* with MIC values of 0.90, 2.08, 1.98 μ M respectively. By comparison with other secondary metabolites, the production of 1 was rich, the yield of which was as much as 15 mg/L, and had potential application in future.

Key words: *Artemisia annua* L.; *Aspergillus fumigatus*; endophytic fungus; secondary metabolites; gliotoxin

内生菌是植物微生态系统的重要组成部分^[1,2],在自然环境中,高等植物都含有内生菌^[3],且发挥着重要的生理和生态功能^[4]。黄花蒿(*Artemisia annua* L.)是我国传统的药用植物^[5,6],具有清热解症、驱风止痒功效^[7],目前还没有其内生菌系统研究的报道。在前期研究中,本课题组发现黄花蒿内生菌具有丰富的生物多样性^[8],部分内生菌已被发现产功能活性次生代谢产物^[9]。本文以一株内生真菌 SPS-02 为研究对象,通过分类鉴定、抗菌测试和次生代谢产物研究,发现该菌代谢胶霉毒素

(gliotoxin)类化合物丰富,具有一定的应用前景。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料与供试菌株

原植物采自浙江临安天目山,经杭州师范大学金孝锋教授鉴定为黄花蒿 *Artemisia annua* L.。植物病原菌材料分别有苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulate*)、番茄灰霉菌(*Botrytis cinerea*)、水稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、西瓜镰刀菌根腐病菌(*Rhizobium frank*)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)。大肠杆菌菌株 *Escherichia coli* ATCC25922、金黄色葡萄球菌菌株 *Staphylococcus aureus* ATCC25923、白色念珠菌

Candida albicans ATCC10231 等菌种现均保藏于浙江工业大学药学院。

1.1.2 常用试剂、培养基与仪器

常用试剂均为国产分析纯级别,固体培养基采用察氏培养基,液体培养基采用高盐察氏培养基,显微镜(OLYMPUS, BH-2),照相机(三星, HK-I9100), UV-VIS 检测器(岛津, SPD-10AV)、高效液相输液泵(岛津, LC-10AD),核磁共振波谱仪(Bruker, AVANCE III, 500 MHz), C_{18} 柱(Phenomenex, KJ0-4282; Nacalai, 38141-61),微孔板检测系统(Molecular Devices, SpectraMax M2)。

1.2 拮抗活性测试

内生真菌 SPS-02 从健康黄花蒿茎中获得^[9]。拮抗试验采用对峙平板法^[10]来判断对植物病原真菌的抑制作用,具体操作如下:将内生真菌分别接种到固体培养基平板的一点上,活化的病原真菌接种到平板中心对称的另一点上,两点距离约 4 cm,在恒温培养箱中 30 ℃ 培养,5~8 d 后观察对称两点菌落生长情况,以有无形成抑菌带或拮抗线来判定内生曲霉与病原菌是否有拮抗作用。

1.3 内生真菌的鉴定

1.3.1 形态特征

根据《真菌鉴定手册》^[11],采用平皿观察菌落形态,油镜观察菌丝形态和孢子大小、形状等特征。

1.3.2 生理生化特性

分别采用 10 种不同类别的唯一碳源培养基和 9 种不同类别的唯一氮源,观察内生真菌在这些培养基上的特征。

按 $\geq 200 \mu\text{g/mL}$ 的浓度,向液体培养基加入氨苄青霉素(20 mg)、链霉素(20 mg)、井冈霉素(0.2 g,有效成分 20%)、青霉素(20 mg)、两性霉素(20 mg)、次氯酸钠(100 μL),以无菌水(100 μL)为空白对照,温度控制在 30 ℃,200 rpm 摇床 3 d,观察其结果,若液体培养基中出现颗粒状物质或锥形瓶上有菌团挂壁现象,则判定该菌生长。

1.3.3 分子鉴定和系统发育分析

对内生真菌 18S rDNA 序列进行测序,利用 Blast 搜索软件从 GenBank 数据库中调出相关属种菌株的 18S rDNA 基因序列,用 MEGA 6 软件 Clustal X 方法进行系统发育分析,采用邻接法(Neighbor-Joining),Boottrap 值设置为 1000 对内生真菌构建系统发育树^[12]。

1.4 发酵产物分离与提取

1.4.1 发酵产物的培养

将内生真菌菌丝接种于种子培养液中,3 d 后转接到装有 200 mL 培养液的三角瓶(500 mL)中,将条件控制在温度 30 ℃,转速 120 rpm 培养 12 d。

1.4.2 发酵产物分离与鉴定

发酵完成后,将发酵培养液过滤,滤液经乙酸乙酯萃取得到粗提物。粗提物经硅胶柱分离,不同体积比的氯仿与甲醇混合试剂(100:0 \rightarrow 0:100)反复洗脱,得到六个组分($F_0 \sim F_5$)。组分 F_2 经 HPLC(乙腈:水 = 35:65,1 mL/min,257 nm,柱子型号 KJ0-4282)进一步分离获得化合物 1,液相保留时间为 10.4 min,组分 F_3 经 HPLC(乙腈:水 = 10:90,1 mL/min,205 nm,柱子型号 38141-61)下获得化合物 2、3、4,液相保留时间分别约为 16.6、22.8、29.0 min。利用波谱技术(如核磁共振氢谱和碳谱及质谱等)并结合文献资料确定次生代谢产物化学结构。

1.4.3 发酵产物的抑菌活性

以二甲基亚砜作为溶剂将单体化合物溶解,再以无菌蒸馏水为溶剂将其制备浓度为 1.28 mg/mL 的样品溶液,冷藏备用。液态发酵培养三种指示菌 24 h 后,通过加入无菌培养液在酶标仪检测下将指示菌培养液的吸光值调整至 0.1~0.3。根据张晶等人^[13]的方法,测定大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的 MIC 值,所得结果均为 3 次实验重复。

2 结果与分析

2.1 拮抗筛选

内生真菌 SPS-02 在培养基上长势均良好,2~3 d 后,SPS-02 与对峙接种的苹果炭疽病菌等 6 种病原真菌的菌丝均开始接触。4~5 d 后各培养基 SPS-02 菌丝体开始呈现不同的态势:SPS-02 与苹果炭疽病菌形成面积对半平分,在交界处形成明显的抑菌带;SPS-02 对水稻瘟病菌、小麦纹枯病菌、烟草赤星病菌形成包围的态势,在交界处形成明显的抑菌带;SPS-02 相对番茄灰霉菌、根瘤菌长势较弱,但在交界处也能形成明显的抑菌带,其中与根瘤菌形成了白色拮抗线。此后,菌株 SPS-02 与病原指示真菌面积不再扩展,番茄灰霉菌、根瘤菌菌丝布满整个平板空间,但未影响 SPS-02 的面积(图 1),表明菌株 SPS-02 具有良好的拮抗致病菌活性。

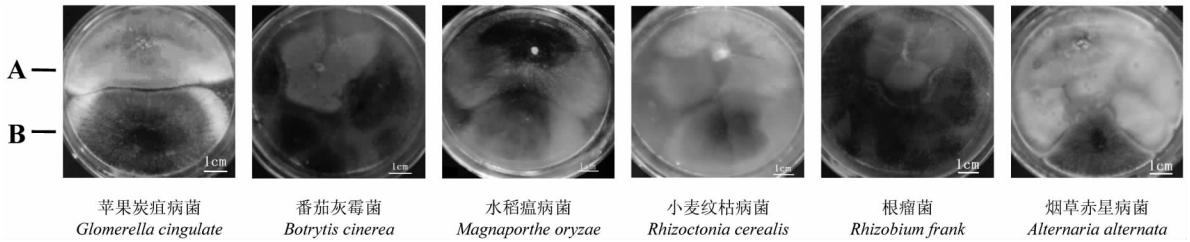


图 1 SPS-02 对峙平板拮抗效果图 (A 为 SPS-02, B 为病原指示真菌)

Fig. 1 Inhibitory effect of SPS-02 on pathogenic fungi (A:SPS-02, B:pathogenic fungi)

2.2 内生真菌的鉴定

2.2.1 形态特征

菌株 SPS-02 接入平皿后,在高盐察氏培养基中生长较快,菌丝稀疏,菌落呈青色,厚度小于 1 mm

(见图 2)。10 d 后,菌落直径达到 50 ~ 60 mm,并铺满整个平板。气生菌丝短,绒状,中心有突起,部分平板有辐射状皱纹,基内菌丝呈青黄色。分生孢子梗发生于基质,菌丝有隔,分生孢子球形。

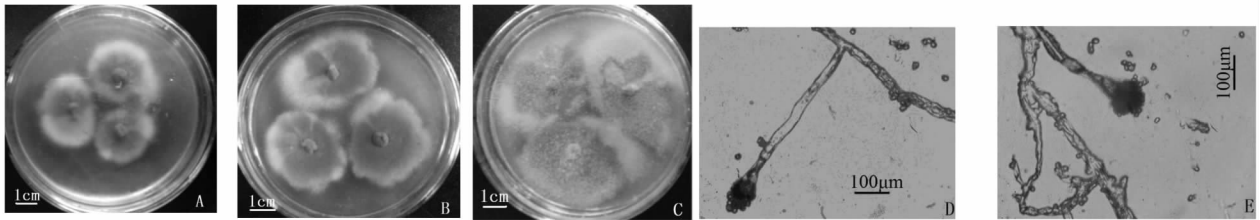


图 2 内生真菌 SPS-02 菌落和孢子形态

Fig. 2 Colonial morphology of SPS-02

2.2.2 生理生化特性

菌株 SPS-02 对淀粉和 β -环糊精等 4 种碳源和亚硝酸钠、氯化铵等 8 种氮源均有不同程度的利用(见表 1),表明 SPS-02 生物转化能力强,生长旺盛,

特别是当尿素作为唯一氮源时,培养过程中培养基颜色变为红色。另外,SPS-02 的耐受性较强,对两性霉素、井冈霉素等均具有一定的耐受性。

表 1 内生真菌 SPS-02 对碳源和氮源的利用情况

Table 1 The utilization of carbon and nitrogen sources of the endophytic fungus SPS-02

碳源 Carbon source	淀粉 Starch	甘露醇 Mannitol	β -环糊精 β -Cyclodextrin	壳聚糖 Chitosan	柠檬酸三钠 Sodium citrate	苯甲酸钠 Sodium benzoate	海藻酸钠 Sodium alginate	羟甲基 纤维素钠 Carboxy methylcellulose sodium	聚乙二醇 Polyethylene glycol	十二烷基 苯磺酸钠 SDBS
SPS-02	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
氮源 Nitrogen source	亚硝酸钠 Sodium nitrite	氯化铵 Ammonium chloride	丙烯酰胺 Acrylamide	甘氨酸 Glycine	色氨酸 Tryptophan	尿素 Urea	干酪素 Casein	胰岛素 Insulin	铁氰化钾 Potassium ferricyanide	
SPS-02	-	+	+	+	+	+	+	+	-	

注: + 快速生长,- 现象不明显。

Note: + rapid growth;- unremarkable phenomenon.

2.2.3 分子鉴定和系统发育分析

测序结果显示,菌株 SPS-02 的 18S rDNA 序列长度为 1469 bp。通过 Blast 比对,发现 SPS-02 的 18S rDNA 序列和 *Aspergillus fumigatus* 的同源性为 99%。为了确定和 SPS-02 的亲缘关系,选择 Gen-

Bank 中 *Aspergillus* 和邻近属代表性菌株的 DNA 序列,用 Clustal X 方法匹配排列,使用 MEGA 6 邻接法构建系统发育树,结果见图 3。分析系统发育树显示,菌株 SPS-02 与 *Aspergillus fumigatus* (Accession No. KF322139.1) 聚在一支,支持率为 99。结合该

菌株的形态学和微观特征^[14],将内生真菌 SPS-02 序列已向 NCBI 提交,GenBank 编号 No. KM103660。确定为烟曲霉 *Aspergillus fumigatus*。该菌 18S rDNA

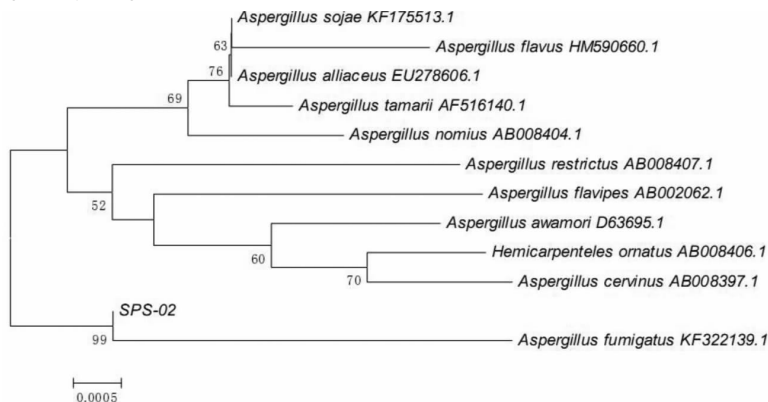


图3 基于 18S rDNA 序列的菌株 SPS-02 系统发育树

Fig. 3 The phylogenetic tree of SPS-02 generated by 18S rDNA sequences analyses

2.3 发酵产物分离与鉴定

2.3.1 发酵产物的提取和分离

通过发酵和乙酸乙酯萃取,获得粗浸膏 10.06

g。利用硅胶柱以及制备液相色谱分离得到 4 个化合物,质量分别为 22.2、1.2、7.5 mg 和 1.4 mg。

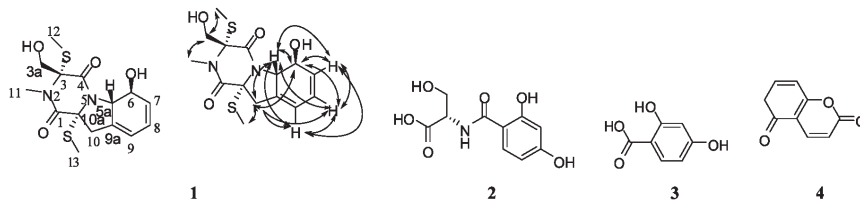


图4 化合物 1~4 的化学结构和化合物 1 主要 NOE 关联

Fig. 4 Chemical structures of compounds 1-4 and Key NOE correlations for compound 1

表3 化合物 1 的¹H NMR 和¹³C NMR 核磁数据

Table 3 ¹H and ¹³C NMR data for compound 1 (500 MHz, CDCl₃)

Position	δ_c	δ_H (J in Hz)	HMBC
1	165.8	-	11-MeN
3	71.4	-	11-MeN, 3a-H, 12-MeS
3a	63.5	4.31 (1H, d, J = 11.8); 3.83 (1H, d, J = 11.8)	-
4	166.7	-	3a-H
7	129.7	5.65 (1H, d, J = 9.7)	6-H, 8-H
8	123.1	5.84 (1H, m)	7-H, 9-H
9	119.7	5.90 (1H, br s)	8-H
9a	131.8	-	9-H, 10-H
10	38.8	3.01 (1H, d, J = 15.8); 2.92 (1H, d, J = 15.8)	-
10a	72.1	-	10-H, 13-MeS
11	28.5	3.09 (3H, s)	-
12	13.5	2.22 (3H, s)	-
13	14.9	2.19 (3H, s)	-

2.3.2 化合物鉴定

化合物 1 淡黄色, 可溶于甲醇、氯仿。正离子 ESI-MS 存在离子峰 m/z 379 $[M + Na]^+$, m/z 735 $[2M + Na]^+$, 确定该化合物分子量为 356, 正离子 HR-ESI-MS 分析 m/z 379.0759 $[M + Na]^+$, 与 $C_{15}H_{20}N_2O_4S_2 + Na$ 的理论值 (Calc Mass = 379.0762) 相近, 所以该化合物分子式确定为 $C_{15}H_{20}N_2O_4S_2$ 。 1H -NMR 谱显示的 2 个甲硫基 (δ 2.22, 2.19)、1 个甲氨基 (δ 3.09)、2 个羟基氢信号 (δ 3.60), ^{13}C NMR 谱中具有 2 个羰基碳信号 (δ 166.7, 165.8), 结合二维 HSQC、HMBC、 1H - 1H COSY、NOESY (见表 3、图 4) 与报道文献^[15,16]对照, 确定化合物 **1** 为 bisdethiobis (methylthio) gliotoxin。

化合物 2 无色, 溶于甲醇, 正离子 ESI-MS 存在离子峰 m/z 242 $[M + H]^+$, 提示该化合物分子量约为 241。 1H NMR (methanol- d_4) 谱显示, 低场区有三个氢信号 (δ 6.48, 6.96, 7.55), 表明结构中有一个 3 取代的苯环; 在 δ 4.62 位置有 3 个氢信号, 表明化合物结构中有一个亚甲基和一个次甲基, 且与杂原子 (O 或 N) 相连。通过与文献^[17]核磁数据对照, 确定化合物 **2** 为 *N*-(2,4-dihydroxybenzoyl)-*L*-serine。

化合物 3 粉红色, 溶于甲醇, 负离子 ESI-MS 存在离子峰 m/z 153 $[M - H]^-$ 提示化合物的分子量约为 154。 1H NMR (methanol- d_4) 在中低场区有 δ : 7.36 (1H, br s), 6.90 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 6.66 (1H, s) 信号, 这些信号的积分提示分子结构中有一个苯环且具有 3 个氢的取代位。与文献^[18,19]对照, 确定 **3** 为 2,4-dihydroxybenzoic acid。

化合物 4 无色, 溶于甲醇, 负离子 ESI-MS 存在离子峰 m/z 163 $[M + H]^+$ 提示化合物的分子量约为 162。 1H NMR (methanol- d_4) 的中低场区 δ : 7.54 (1H, d, $J = 7.1$ Hz), 7.08 (1H, br s), 6.89 (1H, d, $J = 7.9$ Hz) 5.84 (1H, br s), 提示化合物存在 2 对 C-C 双键; 在高场区有 1 个亚甲基的氢信号 (δ 2.75, br s, 2H), 化合物 **4** 鉴定为 2*H*-Benzopyran-2,5(6*H*)-dione^[20]。

2.4 发酵产物的抑菌活性

抗菌活性结果显示, 黄花蒿内生烟曲霉 SPS-02 产生的 4 个单体化合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌抑菌作用效果一般, MIC 值都大于 220 μM 。化合物 **1**, **3** 和 **4** 对白色念珠菌具有明显抑制效果, MIC 值分别为 0.90、2.08 和 1.98 μM 。菌株 SPS-02 代

谢化合物 **1** 初始效价约为 15 mg/L, 具有一定的开发生产潜力。

3 讨论

自 2004 年以来, 已有狗牙根^[21,22]、格木^[23,24]、嘉兰^[25]等 23 种植物中发现内生曲霉, 化学研究表明这些内生曲霉次生代谢产物丰富, 结构独特, 引起国内微生物学和天然产物化学领域研究者的兴趣。本论文报道了来自黄花蒿中的一株内生烟曲霉 SPS-02, 发现该菌能产生胶霉毒素 bisdethiobis (methylthio) gliotoxin (**1**), 该物质具有较强的抗肿瘤^[16]和免疫抑制^[26]等活性。因此, 内生真菌 SPS-02 有一定的应用价值。

参考文献

- 1 Clay K, Holah J. Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science*, 1999, 285:1742-1744.
- 2 Jones JDG, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444:323-329.
- 3 Tan RX, Zou WX. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod Rep*, 2001, 18:448-459.
- 4 Schulz B, Boyle C, Draeger S *et al.* Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycol Res*, 2002, 106:996-1004.
- 5 Lin YR (林有润). Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Science Press, Beijing, 1991, Vol. 76 (2): 62-65.
- 6 Tu YY. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. *Nat Med*, 2011, 17:1217-1220.
- 7 Jiangsu New Medical College (江苏新医学院). Dictionary Traditional Drugs (中药大辞典). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1986, 2052-2053.
- 8 Liu JH (刘金花), Wu LF (吴玲芳), Zhang HW (章华伟). Isolation and preliminary identification of endophytes from *Artemisia annua* Linn. *Amino Acids Biotic Res* (氨基酸和生物资源), 2011, 33(4): 27-30.
- 9 Zhang HW, Ying C, Bai XL. Advancement in endophytic microbes from medicinal plants. *Int J Pharm Sci Res*, 2014, 5: 1589-1600.
- 10 Tao G (陶刚), Liu XZ (刘杏忠), Wang G (王革) *et al.* Determination of biocontrol strain THS-1 of *Trichoderma harzianum* producing chitinase by biochemical methods. *Southwest China J Agric Sci* (西南农业学报), 2005, 18: 452-455.
- 11 Wei JC (魏景超). Manual Identification of Fungi (真菌鉴定手册). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press,

1979. 132-135.
- 12 Ding L, Qin S, Li F *et al.* Isolation, antimicrobial activity, and metabolites of fungus *Cladosporium* sp. associated with red alga *Porphyra yezoensis*. *Curr Microbiol*, 2008, 56: 229-235.
 - 13 Zhang J (张晶), Lin C (林晨), Ceng YZ (岑颖洲), *et al.* Study of MTT assay for antifungal susceptibility testing. *J Jinnan Univ, Med Ed* (暨南大学学报, 医学版), 2003, 24(6): 36-40.
 - 14 Qi ZT (齐祖同). *Flora Fungorum Sincorum* (中国真菌志), Vol. 5. *Aspergillus et Teleomorphi cognati*. Beijing: Science Press, 1997. 28-30.
 - 15 Kirby GW, Robins DJ, Sefton MA *et al.* Biosynthesis of bisdehthiobis (methylthio) gliotoxin, a new metabolite of *Gliocladium deliquescens*. *J Chem Soc, Perkin Transactions 1*, 1980, 0: 119-121.
 - 16 Zhao WY, Zhu TJ, Han XX *et al.* A new gliotoxin analogue from a marine-derived fungus *Aspergillus fumigatus* Fres. *Nat Prod Res*, 2009, 23: 203-207.
 - 17 Ai W, Lin XP, Tu Z *et al.* Axinelline A, a new COX-2 inhibitor from *Streptomyces axinellae* SCSIO02208. *Nat Prod Res*, 2014, 28: 1219-1224.
 - 18 Pintre IC, Gimeno N, Serrano JL, *et al.* Liquid crystalline and nonlinear optical properties of bent-shaped compounds derived from 3,4'-biphenylene. *J Mater Chem*, 2007, 17: 2219-2227.
 - 19 Das R, Chakraborty D. Cu (II) bromide catalyzed oxidation of aldehydes and alcohols. *Appl Organometal Chem*, 2011, 25: 437-442.
 - 20 Garcia-Alvarez R, Diaz-Alvarez AE, Borge J, *et al.* Ruthenium-catalyzed rearrangement of aldoximes to primary amides in water. *Organometallics*, 2012, 31: 6482-6490.
 - 21 Xu J, Luo X, Zhong W, *et al.* Characterization of volatile constituents from an endophytic *Aspergillus fumigatus* strain. *J Chem Pharm Res*, 2014, 6: 893-897.
 - 22 Li Y, Song YC, Liu JY, *et al.* Anti-Helicobacter pylori substances from endophytic fungal cultures. *World J Microbiol Biotechnol*, 2005, 21: 553-558.
 - 23 Liu YX, Ma SG, Wang XJ, *et al.* Diketopiperazine alkaloids produced by the endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* from the stem of *Erythrophloeum fordii* Oliv. *Helv Chim Acta*, 2012, 95: 1401-1408.
 - 24 Zhou F, Zhang HC, Liu R, *et al.* Isolation and biological evaluation of secondary metabolites of the endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* from *Astragalus membranaceus*. *Chem Nat Comp*, 2013, 49: 568-570.
 - 25 Budhiraja A, Nepali K, Sapra S, *et al.* Bioactive metabolites from an endophytic fungus of *Aspergillus* species isolated from seeds of *Gloriosa superba* Linn. *Med Chem Res*, 2013, 22: 323-329.
 - 26 Yamada A, Kataoka T, Nagai K. The fungal metabolite gliotoxin: immunosuppressive activity on CTL-mediated cytotoxicity. *Immunol Lett*, 2000, 71: 27-32.
-
- (上接第 493 页)
- 12 Lacey MJ, Akhurst RJ, Rhodes SH, *et al.* Biologically active metabolites from *Xenorhabdus* spp. part 1. Dithiopyrrolone derivatives with antibiotic activity. *J Nat Prod*, 1991, 54: 774-784.
 - 13 Gualtieri M, Aumelas A, Thaler JO. Identification of a new antimicrobial lysine-rich cyclolipopeptide family from *Xenorhabdus nematophila*. *J Antibiot*, 2009, 62: 295-302.
 - 14 Zhou QQ, Dowling A, Heide H, *et al.* Xenotrivalpeptides A-Q: depsipeptide diversification in *Xenorhabdus*. *J Nat Prod*, 2012, 75: 1717-1722.
 - 15 Nollmann FI, Dowling A, Kaiser M, *et al.* Synthesis of szentiamide, a depsipeptide from entomopathogenic *Xenorhabdus szentirmaii* with activity against *Plasmodium falciparum*. *Beilstein J Org Chem*, 2012, 8: 528-533.
 - 16 Houard J, Aumelas A, Noël T, *et al.* Cabanillasin, a new antifungal metabolite, produced by entomopathogenic *Xenorhabdus cabanillasii*. *J Antibiot*, 2013, 1-4.
 - 17 Grundmann F, Kaiser M, Schiell M, *et al.* Antiparasitic chaitaphumines from Entomopathogenic *Xenorhabdus* sp. PB61. 4. *J Nat Prod*, 2014, 77: 779-783.
 - 18 Kronenwerth M, Bozhüyük KAJ, Kahnt AS, *et al.* Characterisation of Taxllalids A-G; natural products from *Xenorhabdus indica*. *J Chem Eur*, 2014, 1-11.
 - 19 Bode HB. Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites. *Chem Biol*, 2009, 13: 224-230.
 - 20 Pidot SJ, Coyne S, Kloss F, *et al.* Antibiotics from neglected bacterial sources. *Inter J Med Microbiol*, 2014, 304: 14-22.