

红树林放线菌 *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073 抗菌活性次级代谢产物的研究

宋现芹¹, 蒋鑫², 孙建彬¹, 张春燕^{3,4}, 张云³, 卢来春^{1*}, 鞠建华^{3*}

¹第三军医大学药学院, 重庆 400030; ²山东省眼科研究所青岛眼科医院药剂科, 青岛 266071;

³中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室中国科学院海洋微生物中心广东省海洋药物重点实验室中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301; ⁴中国科学院研究生院, 北京 100039

摘要: 从红沙公园的红树林泥土中分离得到一株生产较强抑菌活性次级代谢产物的放线菌 *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073, 采用滤纸片法进行抑菌活性追踪, 并利用硅胶、凝胶柱层析和 HPLC 等分离手段对其发酵产物进行分离纯化, 得到 3 个化合物, 通过 NMR、MS 等波谱数据分析并参阅文献将 3 个化合物分别鉴定为放线菌素 D、放线菌素 X_{0g} 和制霉菌素 (fungichromin)。其中放线菌素 D 在发酵条件未优化的情况下产量就达到 300 mg/L 以上。

关键词: 红树林放线菌; 抗菌活性; 次级代谢产物; 放线菌素; 制霉菌素

中图分类号: O629

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.008

Antibacterial Secondary Metabolites Produced by Mangrove-derived Actinomycete *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073

SONG Xian-qin¹, JIANG Xin², SUN Jian-bin¹, ZHANG Chun-yan^{3,4}, ZHANG Yun³, LU Lai-chun^{1*}, JU Jian-hua^{3*}

¹College of Pharmacy, Third Military Medical University, Chongqing 400030, China; ²Shandong

Eye Institute Qingdao Eye Hospital, Qingdao 266071, China; ³CAS Key Laboratory of Tropical

Marine Bio-resources and Ecology, Guangdong Key Laboratory of Marine Materia Medica, RNAM Center for Marine Microbiology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China; ⁴Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract: An actinomycete strain *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073 producing strongly-antibacterial metabolites was isolated from the soil collected in Hongsha park. Guided by antibacterial assay, its fermentation was isolated and purified by Silica gel column, Sephadex LH-20 and HPLC. Three compounds were obtained, which were identified as actinomycin D (**1**), actinomycin X_{0g} (**2**) and fungichromin (**3**) by MS and NMR spectroscopic analysis. The output of actinomycin D was more than 300 mg/L, even under nonoptimized growth conditions.

Key words: mangrove-derived actinomycetes; antibacterial activity; secondary metabolites; actinomycins; fungichromin

放线菌是最经济和最具有生物技术学价值的原核生物, 现已发现的天然抗生素 70% 左右来自于放线菌家族^[1], 但是经过几十年陆地放线菌资源的开发, 新化合物发现的概率大大降低, 而以分离得到已知化合物为主^[2]。于是人们开始把眼光投向海洋中, 红树林是位于热带海岸潮间带的木本植物群, 地处海陆过度地带, 周期性受海水浸泡, 多项研究表明采自红树林的泥样比海沙、海草及部分海底硬质样

品有更高的出菌率^[3]。自从 2002 年德国化学家从夏威夷红树林链霉菌分离到具有抗菌活性的铜霉素以来^[4], 陆续有抗 HIV、抗细菌、抗肿瘤等活性的天然产物从红树林放线菌中分离得到^[5-7], 其中, 从巴哈马红树林链霉菌中分离得到的盐孢菌素 (Salinosporamides), 已经进入临床实验^[8]。

本课题组一直致力于海洋微生物生物活性次级代谢产物的获得及重要天然产物的体外生物合成, 近年来的成果包括: 从南海海洋链霉菌 SCSIO 11594 中分离得到 2 个新的环六肽化合物^[9], 其中 maranguicycline B 对肿瘤株 A594、CNE2、HepG2 和 MCF-7 的细胞毒活性优于顺铂; 从南海海洋链霉菌

SCSIO ZJ46 中分离得到了 3 个具有显著抗菌活性的环六肽化合物,阐明了其生物合成基因簇并异源表达出了一个新的同系物^[10,11];从海洋链霉菌 SCSIO LR32 中从深海链霉菌 SCSIO LR32 中分离得到芳酰胺类化合物^[12]和一系列具有抗肿瘤活性的角环素类新化合物 grincamycins B-F,阐明了其生物角环素类合成基因簇并异源表达出了一个新的同系物 GCN-Q^[13,14]。最近,我们从红沙公园泥样中分离得到了一株海洋红树林放线菌 *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073,在 ISP2 培养基上菌落平坦,底部淡黄色,表面初为白色,后变成红褐色。其次级代谢产物丰富,利用粗提物进行抑菌活性实验,发现能够较强得抑制枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633、苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* ATCC 10792 和藤黄微球菌 *Micrococcus luteus* 的生长。随后,我们采用活性追踪的方法对这株放线菌的发酵产物进行提取分离,得到了两个放线菌素类化合物放线菌素 D、放线菌素 X₀₉ 和一个多烯类化合物 fungichromin。本文主要报道该菌株发酵产物的提取分离及单体化合物的结构鉴定。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

Bruker DRX 500 核磁共振仪(500/125 MHz, TMS 为内标);Agilent 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器),Phenomenex(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);日立 Primaide 高效液相色谱仪, YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm × 10 mm, 5 μm);HS-GF₂₅₄ 硅胶薄层板(烟台江友硅胶开发有限公司);色谱纯乙腈(安徽时联公司),其它试剂均为国产分析纯。

SCSIO ZS0073 从采自红沙公园的泥样中分离纯化而来;抑菌活性测试供试菌株为枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633、苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* ATCC 10792 和藤黄微球菌 *Micrococcus luteus*,所有菌种保存于中国科学院海洋微生物中心。

LB 培养基:胰蛋白胨 10 g/L,酵母提取物 5 g/L, NaCl 10 g/L,摇动容器直至全部溶解,用去离子水定容至所需体积,用 5 mol/L NaOH 调 PH 至 7.0,加入 15 g/L 琼脂粉,在 115 °C 灭菌 30 min。

ISP2 培养基:酵母浸粉 4 g/L,麦芽提取粉 10 g/L,葡萄糖 4 g/L,海盐 30 g/L, PH 7.2 ~ 7.4;琼脂 20 g/L,在 115 °C 灭菌 30 min。

AM6 培养基:淀粉 20 g/L,葡萄糖 10 g/L,酵母膏 5 g/L,碳酸钙 5 g/L,海盐 30 g/L, PH 7.2 ~ 7.4。在 115 °C 灭菌 30 min。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的发酵

选择菌株筛选时用的培养基 AM6 作为放大发酵用的培养基,将纯化好的菌株用接种环接种至 25 个装有 50 mL AM6 培养基的 250 mL 锥形瓶中,置于 37 °C、200 rpm 摇床上振荡培养 2 d 得到种子液。然后将种子液倒入 50 个装有 200 mL AM6 培养基的 1000 mL 锥形瓶中,置于 37 °C、200 rpm 摇床上振荡培养 7.5 d 得到发酵液。

1.2.2 抑菌活性测试

取待测样品的 DMSO 溶液 5 μL,加到 0.6 mm 直径的滤纸片上,滤纸片置于生长有枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633、苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* ATCC 10792 和藤黄微球菌 *Micrococcus luteus* 的 LB 检测平板中,37 °C 培养箱中培养 24 h 后,测量样品的抑菌圈。

1.2.3 发酵产物的提取分离

将得到的发酵产物(10 L)在 4000 rpm 条件下离心 10 min 得到菌丝体和菌液两部分,将菌丝体和菌液部分分别用等体积丙酮和丁酮萃取 3 次,经过减压浓缩得到粗提物,将粗提物经 HPLC 检测,结果显示所含成分相似,故将两部分合并(共 40 g)。粗提物测试抗菌活性后上正相硅胶柱,以氯仿-甲醇体系(V:V:100:0,98:2,96:4,94:6,92:8,9:1,8:2,6:4,5:5)梯度洗脱并根据每个馏分点板情况合并,得到 Fr 1 ~ Fr 6 六个组分,测试每个组分的抗菌活性,将有抑菌活性的 Fr 2 的一小部分上半制备柱制备得到化合物 1(60 mg);将同样有抑菌活性的 Fr 3 进行常压硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯体系梯度洗脱,将得到的第二个馏分的一部分上半制备柱制备得到化合物 2(17 mg)。将 Fr 6 上反相 Flash 以乙腈-水体系梯度洗脱后,得到的第 5 个馏分上半制备柱制备得到化合物 3(8 mg)。

2 结果与讨论

2.1 粗提物及化合物的 HPLC 分析

从粗提物中共分离得到 3 个单体化合物,粗提物和单体化合物的保留时间及化合物 1 ~ 3 的紫外吸收光谱见图 1(Agilent 1260;Phenomenex ODS column: 150 mm × 4.6 mm, 5 μm; A 相:0.1% HAc/

15% CH₃CN in H₂O, B相: 0.1% HAc/85% CH₃CN in H₂O, 梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; DAD 检测器)。

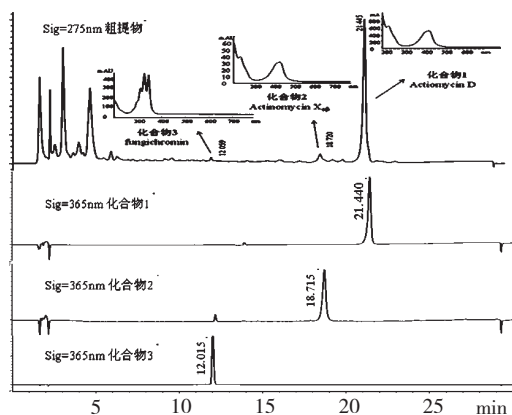


图1 粗提物和化合物1~3 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of the crude extracts and compounds 1-3

2.2 化合物结构鉴定

化合物 1 深红色晶体 (CDCl₃), 高分辨质谱 HR-ESI-MS (positive) 显示在 m/z 1255.6358 处出现准分子离子峰 [M + H]⁺, m/z 1277.6195 [M + Na]⁺, 提示该化合物的相对分子质量为 1254。再结合化合物的¹H NMR 和¹³C NMR 谱图信息, 确定

化合物 1 的分子式为 C₆₂H₈₆N₁₂O₁₆。¹³C NMR 谱显示 δ 165 ~ 175 之间有 12 个碳吸收, 在 δ 34 ~ 40 之间有 4 个 -CH₃ 碳的吸收, 结合分子式中含有 12 个 N 原子, 我们推测 δ 165 ~ 175 之间的碳是酰胺羰基碳, δ 34 ~ 40 之间的 4 个 -CH₃ 为 N-CH₃ 碳信号。这些核磁数据符合放线菌素类化合物的特征, 进一步与文献中放线菌素 D 的核磁数据对比后, 我们发现化合物 1 的核磁数据与文献中放线菌素 D 的数据基本一致^[15], 故确定化合物 1 为放线菌素 D (结构如图 1 所示)。

化合物 2 红色针晶 (CDCl₃), 高分辨质谱 HR-ESI-MS (positive) 显示在 m/z 1293.6104 处出现离子峰 [M + Na]⁺, HR-ESI-MS (negative) 显示在 m/z 1269.5254 处出现离子峰 [M - H]⁻, 提示该化合物的相对分子质量为 1270。化合物的¹³C NMR 谱图信息显示化合物有 62 个碳, 确定化合物 2 的分子式为 C₆₂H₈₆N₁₂O₁₇, 比化合物 1 多了一个氧原子。仔细比较化合物 1 和 2 的碳谱数据, 发现他们非常相似, 但化合物 2 在高场区少了一个信号, 而在 δ 70.0 处多了一个信号, 推测化合物 2 脯氨酸 4 号位的氢被羟基取代, 通过与文献数据对比^[16], 最终确定化合物 2 为 actinomycin X₀₈ (结构如图 1 所示)。

表 1 化合物 1 和化合物 2 的核磁数据 (CDCl₃, 500MHz, δ _H, J in Hz; CDCl₃, 125MHz, δ _C)

Table 1 The NMR data of compounds 1&2 (CDCl₃, 500MHz, δ _H J in Hz; CDCl₃, 125MHz, δ _C)

Position	化合物 1 (α -ring)		化合物 1 (β -ring)		化合物 2 (α -ring)		化合物 2 (β -ring)		
	d_H	d_C	d_H	d_C	d_H	d_C	d_H	d_C	
Thr	1	-	168.7	-	167.7	-	168.9	-	167.7
	2	4.60 (1H, dd, 6.2, 2.2)	55.2	4.51 (1H, dd, 6.7, 2.7)	54.9	4.84 (1H, dd, 6.9, 2.3)	55.5	4.50 (1H, dd, 6.4, 2.6)	54.9
	3	5.19 (1H, qd, 5.9, 2.6)	75.1	5.15 (1H, qd, 5.9, 2.7)	75	5.25 (1H, m)	75.4	5.25 (1H, m)	74.8
	4	1.23 (3H, d, 5.1)	17.8	1.21 (3H, d, 5.1)	17.4	1.29 (3H, d, 6.1)	17.8	1.26 (1H, d, 6.1)	17.7
NH	7.19 (1H, d, 6.7)	-	7.73 (1H, d, 6.6)	-	7.50 (1H, d, 7.0)	-	7.45 (1H, d, 6.5)	-	
D-Val	1	-	173.7	-	173.4	-	173.3	-	173
	2	3.54 (1H, m)	58.9	3.52 (1H, m)	58.8	3.58 (1H, m)	58.9	3.56 (1H, m)	58.1
	3	2.08 (1H, m)	31.8	2.05 (1H, m)	31.6	2.11 (1H, m)	31.4	2.11 (1H, m)	31.2
	4	1.09 (3H, d, 5.8)	19.4	1.08 (3H, d, 5.8)	19.2	1.13 (1H, d, 6.8)	19.4	1.11 (1H, d, 6.8)	19.2
	5	0.87 (3H, d, 6.6)	19.1	0.85 (3H, d, 6.6)	19.1	0.90 (3H, d, 6.6)	19.2	0.88 (3H, d, 6.7)	19
NH	8.17 (1H, d, 5.3)	-	8.00 (1H, d, 5.5)	-	8.22 (1H, d, 5.2)	-	7.94 (1H, d, 6.0)	-	
Pro	1	-	173.4	-	173.3	-	173.5	-	173.2
	2	5.98 (1H, d, 8.9)	56.6	5.91 (1H, d, 8.9)	56.4	6.05 (1H, d, 9.3)	57.0	5.97 (1H, d, 9.1)	56.6
	3	1.83 (1H, m)	31.3	1.83 (1H, m)	31.0	2.07 (1H, m)	32.0	2.13 (1H, m)	39.7
	4	2.63 (1H, m)	-	2.63 (1H, m)	-	2.67 (1H, m)	-	2.15 (1H, m)	-
	2.10 (1H, m)	23.1	2.10 (1H, m)	22.9	2.13 (1H, m)	23.0	4.14 (1H, d, 17.4)	70.0	

Position	化合物 1 (α -ring)		化合物 1 (β -ring)		化合物 2 (α -ring)		化合物 2 (β -ring)		
	d_H	d_C	d_H	d_C	d_H	d_C	d_H	d_C	
	2.13 (1H, m)		2.13 (1H, m)		2.19 (1H, m)				
5	3.67 (2H, m)	47.7	3.70 (2H, m)	47.4	3.69 (2H, m)	47.6	3.91 (2H, m)	54.8	
Sar	1	-	166.5	-	166.4	-	166.5	-	166.2
	2	4.78 (1H, d, 17.4)	51.5	4.70 (1H, d, 17.4)	51.4	4.75 (1H, d, 17.5)	51.5	4.57 (1H, d, 17.6)	51.4
	3.60 (1H, d, 17.4)		3.59 (1H, d, 17.4)		3.64 (1H, d, 17.5)		3.61 (1H, d, 17.6)		
NMe	2.90 (3H, s)	35	2.84 (3H, s)	35.0	2.94 (3H, s)	35.1	2.88 (3H, s)	35.1	
MeVal	1	-	167.8	-	166.6	-	167.7	-	166.5
	2	2.64 (1H, m)	71.4	2.64 (1H, m)	71.2	2.67 (1H, m)	71.4	2.67 (1H, m)	71.3
	3	2.64 (1H, m)	27.0	2.64 (1H, m)	27.0	2.67 (1H, m)	27.2	2.67 (1H, m)	27.1
	4	0.93 (3H, d, 6.2)	21.7	0.92 (3H, d, 6.2)	21.6	0.97 (3H, d, 6.3)	21.8	0.95 (3H, d, 6.2)	21.7
	5	0.71 (3H, d, 3.5)	19.3	0.70 (3H, d, 3.5)	19.1	0.76 (3H, d, 2.5)	19.3	0.74 (3H, d, 2.2)	19.2
	NMe	2.89 (3H, s)	39.3	2.84 (3H, s)	39.2	2.95 (3H, s)	39.4	2.88 (3H, s)	39.3

* Chromophore; 化合物 1: δ_H : 2.19 (3H, s, H₃-12), 2.52 (3H, s, H₃-11), 7.34 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-7), 7.59 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-8); δ_C : 7.8 (C-12), 15.1 (C-11), 101.7 (C-1), 113.5 (C-4), 125.8 (C-8), 127.8 (C-6), 129.2 (C-9a), 130.4 (C-7), 132.6 (C-9), 140.5 (C-5a), 145.1 (C-4a), 145.9 (C-10a), 147.7 (C-2), 166.7 (C-13), 169.1 (C-14), 179.1 (C-3). 化合物 2: δ_H : 2.23 (3H, s, H₃-12), 2.54 (3H, s, H₃-11), 7.36 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-7), 7.66 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8); δ_C : 7.9 (C-12), 15.3 (C-11), 102.8 (C-1), 113.7 (C-4), 126.2 (C-8), 128.5 (C-6), 129.6 (C-9a), 130.5 (C-7), 131.4 (C-9), 140.7 (C-5a), 145.0 (C-4a), 146.1 (C-10a), 147.1 (C-2), 166.7 (C-13), 169.1 (C-14), 179.2 (C-3).

化合物 3 淡黄色无定型粉末,核磁共振碳谱显示有 35 个碳,其中包含 10 个烯碳、1 个酯基碳。高分辨质谱 HR-ESI-MS 在 m/z 693.3818 处出现 $[M + Na]^+$ 峰, m/z 671.3979 $[M + H]^+$, 推测其分子式为 C₃₅H₅₈O₁₂。化合物的紫外吸收光谱显示在 300 ~ 400 nm 范围内有 3 个连续的大峰,是多烯大环内酯类抗生素的典型特征,在 SciFinder 数据库中检索分子式为 C₃₅H₅₈O₁₂ 的多烯类化合物,推测该化合物为 fungichromin。与文献中的核磁数据^[17] 进行比较后,将此化合物鉴定为 fungichromin (结构如图 2 所示)。

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 0.92 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H₃-6'), 1.30 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H₃-28), 1.31 ~ 1.58 (15H, m, H-4, 6, 8, 10, 12, 2' ~ 5'), 1.79 (3H, s, H₃-29), 2.57 (1H, dd, $J = 8.9, 7.3$ Hz, H-2), 3.27 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-13), 3.72 (1H, dd, $J = 9.1, 1.5$ Hz, H-14), 3.85 (2H, m, H₂-1'), 3.89 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-15), 3.98 (1H, m, H-11), 4.02 (2H, m, H-5, H-9), 4.04 (1H, m, H-3), 4.11 (1H, dd, $J = 5.6, 5.6$ Hz, H-26), 4.19 (1H, m, H-7), 4.85 (1H, m, H-27), 6.02 (1H, dd, $J = 11.2, 2.0$ Hz, H-17), 6.06 (1H, dd, $J = 14.2, 4.80$ Hz, H-25), 6.28 ~ 6.51 (7H, m, H-18 ~ 24); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 11.7 (C-29), 14.4 (C-6'), 17.9 (C-28), 23.7 (C-5'), 26.1 (C-3'), 32.9 (C-4'), 36.2 (C-2'), 39.5 (C-12), 41.2 (C-4), 44.3 (C-10), 45.2 (C-6),

45.3 (C-8), 60.5 (C-2), 70.3 (C-13), 71.5 (C-11), 72.4 (C-1'), 73.2 (C-26), 73.3 (C-3), 74.0 (C-7), 74.2 (C-5), 74.3 (C-9), 75.2 (C-27), 78.3 (C-14), 80.5 (C-15), 129.1 (C-18), 129.9 (C-17), 132.0 (C-24), 133.7 (C-22), 134.2 (C-20 & C-23), 134.3 (C-25), 134.9 (C-21), 135.4 (C-19), 138.6 (C-16), 173.0 (C-1)。

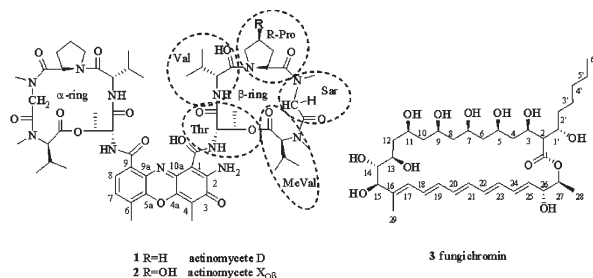


图 2 化合物 1~3 的化学结构

Fig. 2 chemical structure of compounds 1-3

2.3 讨论

Fungichromin 最早发现于纤维素链霉菌中,具有显著的抗真菌活性^[18]。放线菌素 D 是一种环肽类化合物,能通过酯肽链与 DNA 分子的脱氧鸟嘌呤发挥特异性作用而抑制 DNA 依赖型 RNA (特别是 mRNA) 的合成,进而抑制癌细胞的生长^[19]。目前已经用于临床治疗恶性肿瘤,但由于其强烈的毒性,仅限制于恶性肿瘤的治疗^[20,21]。放线菌素 D 可通过化学合成和微生物发酵获得,但合成步骤长、产率

低、成本高,目前主要通过微生物发酵获得放线菌素 D,但产量不高。本文通过抗菌活性测试筛选出的放线菌素 D 生产菌株 *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073,放线菌素 D 的产量达到 300 mg/L 以上,在未经优化的条件下就已经达到了目前已报道的放线菌素 D 发酵最高产量的 60% 以上^[22]。本实验工作为后续分子生物学实验提供了产量丰富的菌株资源。目前我们正在基于此菌株的发酵工艺优化和放线菌素生物合成研究,旨在增加产量或得到毒性较低的放线菌素系列化合物。

参考文献

- Berdy J. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot (Tokyo)*, 2005, 58:1-26.
- Bull AT, Ward AC, Goodfellow M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64:573-606.
- Hong K(洪葵). Research progress of Mangrove actinomycetes and their natural products. *Acta Microbiol Sin(微生物学报)*, 2013, 11:1.
- Asolkar RN, Maskey RP, Helmke E, et al. Chalcomycin B, a new macrolide antibiotic from the marine isolate *Streptomyces* sp. B7064. *J Antibiot (Tokyo)*, 2002, 55:893-898.
- Ding L, Munch J, Goerls H, et al. Xiamycin, a pentacyclic indolosesquiterpene with selective anti-HIV activity from a bacterial mangrove endophyte. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20:6685-6687.
- Ding L, Maier A, Fiebig HH, et al. Divergolides A-D from a mangrove endophyte reveal an unparalleled plasticity in ansa-Macrolide biosynthesis. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, 50:1630-1634.
- Fu P, Yang CL, Wang Y, et al. Streptocarbazoles A and B, two novel indolocarbazoles from the marine-derived actinomycete strain *Streptomyces* sp. FMA. *Org Lett*, 2012, 14:2422-2425.
- Feling RH, Buchanan GO, Mincer TJ, et al. Salinosporamide A: a highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2003, 42:355-357.
- Song YX, Liu G, Li J, et al. Cytotoxic and antibacterial angucycline-and prodigiosin-analogues from the deep-sea derived *Streptomyces* sp. SCSIO 11594. *Mar Drugs*, 2015, 13:1304-1316.
- Song YX, Li QL, Li X, et al. Cyclic hexapeptides from the deep south China sea-derived *Streptomyces scopuliridis* SCSIO ZJ46 active against pathogenic gram-positive bacteria. *J Nat Prod*, 2014, 77:1937-1941.
- Li QL, Song YX, Qin XJ, et al. Identification of the biosynthetic gene cluster for the anti-infective desotamides and production of a new analogue in a heterologous host. *J Nat Prod*, 2015, 78:944-948.
- Ren XM(任香梅), Huang HB(黄洪波), Liu J(刘静), et al. Aromatic amide metabolites from the marine-derived *Streptomyces lusitanus* SCSIO LR32. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2011, 23:591-595.
- Zhang Y, Huang HB, Chen Q, et al. Identification of the grincamycin gene cluster unveils divergent roles for GenQ in different hosts, Tailoring the L-Rhodinose moiety. *Org Lett*, 2013, 15:3254-3257.
- Huang HB, Yang TT, Ren XM, et al. Cytotoxic angucycline class glycosides from the deep sea actinomycete *Streptomyces lusitanus* SCSIO LR32. *J Nat Prod*, 2012, 75:202-208.
- Yu C, Tseng YY. NMR study of the solution conformation of actinomycin D. *Eur J Biochem*, 1992, 209:181-187.
- Mauger AB, Thomas WA. NMR studies of actinomycins varying at the proline sites. *Org Magn Res*, 1981, 17:186-190.
- Noguchi H, Noguchi H, Harrison PH, et al. Biosynthesis and full NMR assignment of fungichromin, a polyene antibiotic from *Streptomyces cellulose*. *J Am Chem Soc*, 1988, 110:2938-2945.
- Shih HD, Liu YC, Hsu FL, et al. Fungichromin: A substance from *Streptomyces padanus* with inhibitory effects on *Rhizoctonia solani*. *J Agric Food Chem*, 2003, 51:95-99.
- Hollstein U. Actinomycin. Chemistry and mechanism of action. *Chem Rev*, 1974, 74:625-652.
- Mondick JT, Gibiansky L, Gastonguay MR, et al. Population pharmacokinetic investigation of actinomycin-D in children and young adults. *J Clin Pharmacol*, 2008, 48:35-42.
- Hill CR, Jamienson D, Thomas HD, et al. Characterisation of the roles of ABCB1, ABCG1, ABCG2 and ABCG2 in the transport and pharmacokinetics of actinomycin D *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85:29-37.
- Praveen V, Tripathi CKM, Bihari V. Studies on optimum fermentation conditions for actinomycin-D production by two new strains of *Streptomyces* spp. *Med Chem Res*, 2008, 17:114-122.