

极端环境放线菌 TRM45306 的鉴定及次生代谢产物分析

张越锋^{1,2*}, 吕玲玲², 蒋伟权¹

¹塔里木大学生命科学学院; ²新疆兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室
省部共建国家重点实验室培育基地,阿拉尔市,843300

摘要:嗜盐放线菌由于其独特的生理特性和代谢机制,可以产生结构新颖、活性迥异的次生代谢产物。本文以新疆罗布泊极端环境嗜盐放线菌 TRM45306 为研究对象,通过形态学观察、生物学特征和 16S rDNA 序列分析,确定 TRM45306 的分类地位;通过萃取、硅胶柱层析、凝胶柱层析等方法对发酵产物中次生代谢产物进行分离纯化,利用波谱学方法鉴定化合物结构。结果 TRM45306 被鉴定为中度嗜盐性链霉菌,与菌株 *Streptomyces rochei* NBRC 12908(T) 相似度为 100%;从发酵液中分离得到 4 个单体化合物,分别被鉴定为 16 α -甲基-11 β ,17 α ,21-三羟基-9 α -氟孕甾-1,4-二烯-3,20-二酮-21-醋酸酯(45306-1)、谷甾醇-3-*O*-葡萄糖苷(45306-2)、*N*_b-乙酰色胺(45306-3)和 *N*-丙酰色胺(45306-4)。此研究结果可为新疆嗜盐放线菌次生代谢产物的挖掘提供理论依据和技术支持,对新疆极端环境放线菌资源的开发具有重要意义。

关键词:嗜盐放线菌;次生代谢产物;分离提纯;结构鉴定

中图分类号:R284.1;Q939.92

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.10.011

Identification of Actinomycetes TRM45306 in Extreme Environment and Analysis of Its Secondary Metabolites

ZHANG Yue-feng^{1,2*}, LYU Ling-ling², JIANG Wei-quan¹

¹College of Life Science Tarm University, alar, Xinjiang 843300, China; ²Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, alar, Xinjiang 843300, China

Abstract: Halophilic actinomycetes can produce abundant secondary metabolites with novel structure and different activity due to their unique physiological characteristics and metabolic mechanism. The study was based on halophilic actinomycetes TRM45306 from the extreme environment soil sample collected in Lop nur of Xinjiang. Firstly, the phylogenetic position of TRM45306 was identified by the ways of morphological observation, biological characteristics and 16S rDNA sequence analysis; Secondly, the secondary metabolites were separated from fermentation broth by the joint utilization of various techniques including extraction, silica gel chromatography and gel filtration chromatography; Lastly, the compounds structures were identified by nuclear magnetic resonance methods including ¹³C NMR, ¹H NMR and comparisons of the spectroscopic data with those reported. The research results show that the TRM45306 was a strain of moderate halophilic *Streptomyces*, the similarity to the *Streptomyces rochei* NBRC 12908 (T) was 100%, four compounds were separated from fermentation broth, and their structures were elucidated as 16 α -methyl-11 β ,17 α ,21-trihydroxyl-9 α -pregn-1,4-diene-3,20-dione-21-acetate (Dexamethasone acetate), β -Sitosterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, *N*_b-acetyltryptamine and *N*-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-propionamide. The research results will be an important theoretical basis for excavation of secondary metabolites of halophilic actinomycetes, and will be of great significance to exploit of actinomycetes resources in extreme environment of Xinjiang.

Key words: halophilic actinomycetes; secondary metabolites; isolation and purification; structure identification

嗜盐放线菌是一类适宜生存在一定的盐浓度环境(海洋、盐碱地、咸水湖等)中的革兰氏阳性细菌,

至2013年7月,有效发表的嗜盐放线菌新物种共150株,分布于49个属,56%的新物种来源于中国^[1]。

嗜盐放线菌因其具有独特的基因及生理特征而可能产生丰富多样的代谢产物,如聚羟基丁酸(PHB)、胞外多糖类物质(如EPS、PAVE)等多聚化

收稿日期:2018-02-02 接受日期:2018-07-02

基金项目:国家自然科学基金(31400121)

*通信作者 Tel:86-013565141671; E-mail: zhangyuefeng_tj@163.com

合物,食用蛋白、酶的保护剂和稳定剂,以及抗菌、类激素等药物^[2],因此对嗜盐放线菌次生代谢产物的挖掘具有重要意义。

目前学者们对嗜盐放线菌的研究主要集中在多样性方面,但对其次生代谢产物研究也做了大量工作,研究者们已经从海洋放线菌(但海洋放线菌并不都是嗜盐放线菌)从中分离出多种类型的化合物,且表现出丰富的生物活性,如 γ -吡喃酮类^[3]、 β -咪唑生物碱和吡啶生物碱类^[4]、安沙类抗生素^[5]、核酸抗生素类^[6]、聚噻唑环肽类^[7]、鸟氨酸脱氢酶抑制剂和大环内酯类^[8]等,分别具有杀虫,杀菌以及抗肿瘤等活性。

相对于海洋嗜盐放线菌来说,对陆源嗜盐放线菌的研究则更少,对次生代谢产物的研究只有零星报道,如 Huang^[9]和 Zhao^[10]从一株盐湖土嗜盐放线菌中分离出两类新化合物——Erythronolides H 与 I 和 Actinopolysporins A-C;高升等^[11]从嗜盐多孢放线菌中分离得到了 25 个化合物,鉴定出 19 个化合物的结构,包括蒽醌类、咪唑类、嘧啶类、乙酰胺类、吡啶类、腺苷类等;张越锋等^[12]从罗布泊嗜盐放线菌 RM45037 中得到 4 种化合物分别是 3,4-二氢-6,8-二羟基-3-甲基异香豆素、2-甲基-1,4-苯二酚、邻苯二甲酸(2-乙基己基)二酯和 1,6-二羟基吩嗪。这些研究成果丰富了陆源嗜盐放线菌次生代谢产物库,然而更多特殊陆源嗜盐放线菌还有待人们去挖掘,更多有价值的新颖代谢产物迫切需要科研工作者去发现。

罗布泊位于中国最大沙漠塔克拉玛干沙漠的最东缘,是世界上著名的干旱中心。属于典型极端高盐、高碱、高渗透压的极端环境。罗布泊地区蕴含着大量极端放线菌类群,尤其是嗜(耐)盐、碱放线菌^[13]。极端环境嗜盐放线菌形成了一套适应极端条件的特殊机制,并能产生多样化的特殊代谢产物。然而,目前关于新疆罗布泊地区嗜盐放线菌的研究主要集中在新物种多相分类和生物活性的研究上,对具有抗菌活性菌株的代谢产物的分离与结构鉴定等方面的研究报道较少。

因此,本研究以从极端环境——罗布泊地区土壤中分离得到的一株活性嗜盐放线菌 TRM45306 为研究对象,对其进行物种初步鉴定和次生代谢产物挖掘,具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

菌株 TRM45306 分离自新疆罗布泊地区土壤样品,储藏于塔里木盆地生物资源保护利用兵团重点实验室菌种保藏室,菌株对金黄色葡萄球菌,大肠杆菌,表皮葡萄球菌,辣椒疫霉菌,大丽轮枝菌均具有良好抑菌活性。

1.1.2 培养基

固体培养基:ISP₂ 固体培养基(放线菌培养)(g/L):酵母提取物 4.0 g,麦芽提取物 10 g,葡萄糖 4 g,琼脂粉 16 g,pH7.2~7.4;ISP₄ 固体培养基(耐盐性实验)(g/L):淀粉 10 g,(NH₄)₂SO₄ 4 g,K₂HPO₄ 2 g,MgSO₄ 2 g,CaCO₃ 1 g,琼脂粉 16 g,pH7.2~7.4;种子液培养基:ISP₂ 液体培养基(同上,未加琼脂粉);液体发酵培养基:玉米粉培养基(g/L):玉米粉 15 g,蛋白胨 5 g,葡萄糖 5 g,碳酸钙 1 g,氯化钠 5%,pH7.2~7.4。

1.1.3 仪器及试剂

Varian Inova-600 核磁共振仪(瓦里安公司,美国);TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司,中国);ZYZW211C 恒温培养振荡器(上海智诚分析仪器制造有限公司,中国);DNP9082A 电热恒温培养箱(上海博讯实业有限公司,中国);HVE-50 高压蒸汽灭菌锅(上海博远实业有限公司,中国);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂,中国);各种规格层析柱的定制;柱层层析硅胶(60~100目、200~300目;青岛海洋化工厂),GF-450 硅胶板(青岛海洋化工厂,中国);D101 大孔吸附树脂(天津市光复精细化工研究所,中国);甲醇、丙酮、乙酸乙酯、石油醚、氯仿等有机溶剂(天津市致远化学试剂有限公司,中国)。

1.2 耐盐实验

TRM45306 菌株接种于盐浓度分别为 0%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14% (w/v) 的 ISP₄ 固体培养基中,28℃ 恒温培养 3~7 天,观察菌体形态及生长状况。

1.3 菌种鉴定

参考文献^[14],采用显微镜观察菌株形态,通过耐盐性实验测定关键生化指标,然后提取菌株 TRM45306 的基因组 DNA,扩增 16S rDNA 并测定序

列,将菌株 16S rDNA 提交到 GenBank,获得序列号,再通过 NCBI blast 搜索,并与基因库中已知菌株比较,最终确定菌株的初步分类地位。

1.4 菌株接种及发酵

接种:配制 ISP₂ 固体培养基,在 120 °C 饱和蒸汽压下灭菌 30 min,在超净工作台中无菌条件下制作平板,将菌株 TRM45306 甘油管取出解冻,涂布划线法将菌液涂布在 ISP₂ 培养基平板上,在 28 °C 下,培养 4 天。

发酵:将活化后菌株接种于 ISP₂ 种子液培养基中,37 °C、180 rpm 恒温振荡培养 4 天;将种子液再按接种量 5% 接种于装液量为 40% 的液体发酵培养基中,28 °C、180 rpm 振荡培养 10 天。

1.5 TRM45306 发酵产物的初步分离

收集发酵液(100 L)并过滤,将其分为菌体和上清两个部分。

菌体中粗产物的提取及初步分离:超声条件下,用甲醇对菌体提取 4 次,每次 20 min,将提取液浓缩为浸膏,进一步在超声条件下用乙酸乙酯对浸膏进行萃取分离,浓缩,得乙酸乙酯萃取物浸膏 5.7 g。

发酵液中粗产物的提取及初步分离:采用 D101 大孔树脂吸附柱富集发酵液中化学成分,首先用 4 倍柱体积去离子水洗脱树脂,除去氯化钠以及大极性糖类和杂蛋白质,再分别用 4 倍柱体积的 50% 和 95% 的乙醇-水溶液进行梯度洗脱,收集洗脱液并将

其浓缩、干燥,获得 50% 乙醇洗脱物干品 45 g(称为粗品 1),95% 乙醇洗脱物干品 10 g(称为粗品 2)。

1.6 TRM45306 次生代谢产物的精细分离

分别采用薄层色谱(TLC)和高效液相色谱仪(HPLC)对上述菌体和发酵上清液粗提取物进行分析、筛选,菌体乙酸乙酯萃取物和发酵液上清粗品 1 进行分析,分析结果显示菌体乙酸乙酯提取物主要为弱极性脂肪烃类物质,发酵上清液粗品 1 主要为有大极性色素等物质,这两部分均不具备较高分离价值,故舍弃。

将粗品 II 与 60~100 目的粗硅胶 1:1(质量比)拌样加入到硅胶柱中(200~300 目的硅胶,200 g),流动相为氯仿-甲醇体系进行梯度(经薄层色谱分析,确定体积比为 20:1;10:1;0:1)洗脱分离,收集洗脱液(每 100 mL 为 1 份),在 TLC 指导下依次合并有价值样品,氯仿:甲醇为 20:1 的洗脱物 2 份(Fr.1 和 Fr.2),氯仿:甲醇为 10:1 的洗脱物 2 份(Fr.3 和 Fr.4),氯仿:甲醇为 0:1 的洗脱物用 A 表示。再对 Fr.1~Fr.4 的 4 份合并样进行浓缩干燥,进行二次硅胶分离(与上述方法类似,Fr.1 和 Fr.2 的洗脱剂为氯仿:甲醇=25:1 和 20:1,Fr.3 和 Fr.4 的洗脱剂为石油醚:乙酸乙酯=2:1 和 1:1)。

通过上述硅胶分离,获得四个较为纯的样品,然后对四个样品分别采用凝胶纯化至单体化合物。

上述过程的提取和分离流程图见图 1。

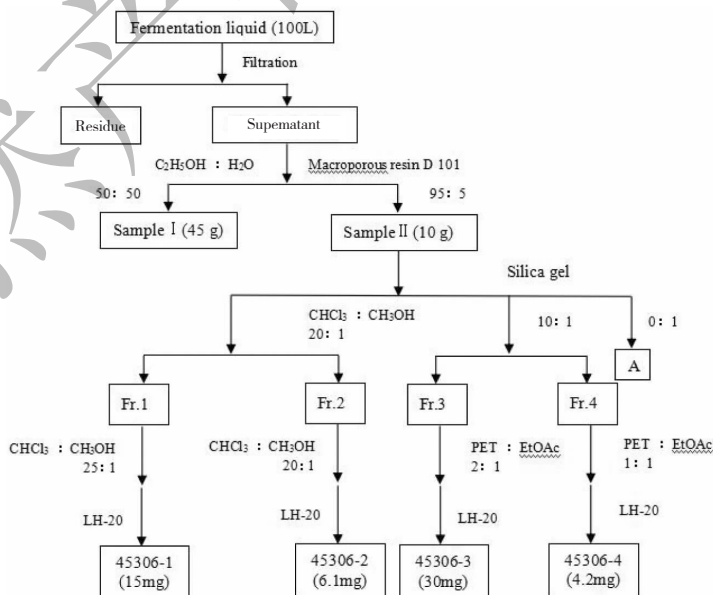


图 1 TRM45306 次生代谢产物分离流程图

Fig. 1 The flow chart of isolation for secondary metabolites from TRM45306

1.7 单体化合物鉴定

采用核磁共振波谱(^{13}C NMR 和 ^1H NMR)技术,结合相关文献对分离获得的化合物进行结构鉴定。

2 结果与分析

2.1 耐盐实验

通过菌株接种于不同盐(NaCl,下同)浓度的发酵培养基中,观察菌株的生长情况,菌株长势从强到弱分别用“+++”、“++”、“+”、“w”表示,不生长则“-”用表示,盐浓度为5%的为“+++”,0%~4%、6%~8%为“++”,9%~11%为“+”,0%、13%为“w”,14%为“-”。经过各盐浓度下菌株生长情况的比对,确定 TRM4545306 的最适盐浓度为5%,为中度嗜盐放线菌,盐耐受浓度范围0%~13%。

2.2 菌种鉴定

菌株 TRM45306 最适生长温度为37℃;在ISP₂和ISP₄培养基上生长良好;在ISP₄培养基上气生菌丝较发达呈灰色,基内菌丝无色,孢子为浅灰色,无可溶性色素产生。菌株 TRM45306 的16S rDNA序列比对分析,与菌株 *Streptomyces rochei* NBRC 12908 (T)相似度为100%,然而通过与菌株 *Streptomyces rochei* 的理化性质的对比分析,发现其最适生长盐浓度不同,菌株 TRM45306 为5%,而后者为0.005%。

2.3 TRM45306 次生代谢产物分离

通过上述分离方法获得4个单体化合物,分别命名为45306-1、45306-2、45306-3、45306-4。

2.4 TRM45306 次生代谢产物结构鉴定

采用了核磁共振波谱(^{13}C NMR 和 ^1H NMR)结合文献对四个化合物的结构进行了鉴定,鉴定结果如下。结构式见图2。

化合物 45306-1 白色晶体粉末; ^1H NMR (Acetone, 500 MHz) δ_{H} : 7.33 (1H, d, $J = 10.1$, H-1), 6.22 (1H, dd, $J = 10.1, 1.5$, H-2), 6.02 (1H, s, H-4), 2.38 (1H, m, H-6), 2.74 (1H, m, H-6), 1.90 ~ 1.50 (2H, m, H-7), 2.53 (1H, m, H-8), 4.41 (1H, m, H-11), 2.38 ~ 1.76 (2H, m, H-12), 2.28 (1H, m, H-14), 1.76 (1H, m, H-15), 1.23 (1H, m, H-15), 3.08 (1H, m, H-16), 1.05 (3H, s, H-18), 1.63 (3H, s, H-19), 5.01 (1H, d, $J = 17.5$, H-21), 4.88 (1H, dd, $J = 17.5$, H-21), 2.10 (3H, s, H-23), 0.91

(3H, d, $J = 7.3$, H-24); ^{13}C NMR (Acetone, 125 MHz) δ_{C} : 151.9 (d, C-1), 129.3 (d, C-2), 185.2 (s, C-3), 124.5 (d, C-4), 166.1 (s, C-5), 30.7 (t, C-6), 27.5 (t, C-7), 24.0, 24.2 (d, C-8), 100.1, 101.5 (s, C-9), 48.1, 48.2 (s, C-10), 71.5, 71.8 (t, C-11), 36.0 (t, C-12), 48.3 (s, C-13), 43.8 (d, C-14), 32.1 (t, C-15), 35.8 (d, C-16), 91.1 (s, C-17), 16.1 (q, C-18), 22.9, 22.9 (q, C-19), 205.1 (s, C-20), 68.0 (t, C-21), 169.7 (s, C-22), 19.6 (q, C-23), 14.3 (q, C-24)。以上数据与文献^[15]对照一致,故鉴定为16 α -甲基-11 β , 17 α , 21-三羟基-9 α -氟孕甾-1, 4-二烯-3, 20-二酮-21-醋酸酯(16 α -methyl-11 β , 17 α , 21-trihydroxyl-9 α -pregn-1, 4-diene-3, 20-dione-21-acetate)。

化合物 45306-2 白色粉末; ^1H NMR (Pyridine, 500 MHz,) δ_{H} : 3.94 (1H, m, H-2), 2.44-2.72 (2H, m, H-4), 5.33 (1H, br s, H-6), 0.65 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-19), 0.98 (3H, d, $J = 6.4$, H-21), 0.86 (3H, d, $J = 7.0$, H-26), 0.88 (3H, d, $J = 7.0$, H-21), 0.92 (3H, t, $J = 7.6$, H-29), 5.05 (1H, d, $J = 7.7$, H-1'), 3.97 (1H, m, H-2'), 4.27 (1H, m, H-3'), 4.30 (1H, m, H-4'), 4.05 (1H, m, H-5'), 4.41-4.55 (2H, m, H-6'); ^{13}C NMR (Pyridine, 125 MHz) δ_{C} : 37.3 (C-1), 30.1 (C-2), 77.9 (C-3), 39.4 (C-4), 140.7 (C-5), 121.7 (C-6), 32.0 (C-7), 31.8 (C-8), 50.1 (C-9), 36.7 (C-10), 21.1 (C-11), 39.1 (C-12), 42.3 (C-13), 56.6 (C-14), 24.2 (C-15), 28.3 (C-16), 56.0 (C-17), 11.8 (C-18), 19.8 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 19.8 (C-22), 26.2 (C-23), 45.8 (C-24), 29.3 (C-25), 19.2 (C-26), 19.0 (C-27), 23.2 (C-28), 11.9 (C-29), 102.4 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.4 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上数据与文献^[16]对照一致,故鉴定为谷甾醇-3-O-葡萄糖苷(β -Sitos-terol 3-O- β -D-glucopyranoside)。

化合物 45306-3 淡黄色液体; ^1H NMR (Acetone, 500 MHz) δ_{H} : 7.03 (1H, d, $J = 1.3$, H-2), 7.63 (1H, d, $J = 7.9$, H-4), 7.13 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-5), 7.22 (1H, t, $J = 7.2$, H-6), 7.38 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-7), 2.95 (2H, t, $J = 6.7$, H-10), 3.56 (2H, m, H-11), 1.92 (3H, s, H-2'); ^{13}C NMR (125 MHz, Acetone) δ_{C} : 121.2 (C-2), 112.4 (C-3), 118.4 (C-4), 119.6 (C-5), 122.5 (C-6), 111.2 (C-7),

136.3 (C-8), 127.8 (C-9), 25.1 (C-10), 40.0 (C-11), 169.0 (C-1') 22.2 (C-2')。以上数据与文献^[17]对照一致,故鉴定为 N_b -乙酰色胺 (N_b -acetyltryptamine)。

化合物 45306-4 淡黄色液体; ^1H NMR (Acetone, 500 MHz) δ_{H} : 7.17 (1H, s, H-2), 7.61 (1H, d, $J = 7.2$, H-4), 7.11 (1H, d, $J = 6.5$, H-5), 7.03 (1H, d, $J = 6.5$, H-6), 7.39 (1H, d, $J = 7.6$, H-7), 2.94 (2H, d, $J = 6.8$, H-10), 3.50 (2H, d, $J = 6.0$, H-11), 10.01 (s, N-12), 2.13 (2H, dd, $J = 18.0$, 10.4, H-14), 1.07 (3H, t, $J = 7.5$, H-2'); ^{13}C NMR (Acetone, 125 MHz) δ_{C} : 121.2 (C-2), 112.7 (C-3), 118.4 (C-4), 118.5 (C-5), 122.4 (C-6), 111.2 (C-7), 127.8 (C-8), 136.9 (C-9), 25.5 (C-10), 39.8 (C-11), 172.7 (C-13), 29.3 (C-14), 9.34 (C-15)。以上数据与文献^[18]对照一致,故鉴定为 N -丙酰色胺 [N -(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)-propionamide]。

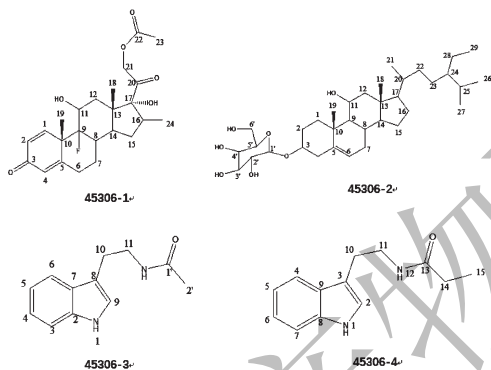


图2 化合物结构式

Fig. 2 The structurals of compounds

3 讨论

近年来,极端环境放线菌由于其具有特殊的遗传特性和代谢机制而成为研究生物进化、生命起源的理想材料,更因其可能产生结构新颖、活性优良的抗生素和酶制剂而受到学者的普遍关注^[19]。新疆罗布泊作为典型极端环境,具有特殊的地质环境(高盐、高碱、高辐射)和气候环境(高温、干旱),其蕴藏着丰富的嗜盐放线菌资源而成为研究极端环境放线菌的理想场所。本研究对罗布泊土壤样品中放线菌 TRM45306 进行了物种的初步鉴定,鉴定结果显示该菌株为中度嗜盐链霉菌,16Sr DNA 序列比对发现与已发表菌株 *Streptomyces rochei* NBRC 12908 (T) 的相似度为 100%,但耐盐性实验结果显示与

Streptomyces rochei 有所不同,因此需要进一步对该菌株的多相分类地位进行详细鉴定。

采用现代分离手段对该菌株发酵液中次生代谢产物进行了详细分离,获得了 4 个已知化合物,但对于嗜盐放线菌及 *Streptomyces rochei* 来说,均属于首次被发现的次生代谢产物。4 个化合物分别被鉴定为醋酸地塞米松(激素类)、谷甾醇-3-*O*-葡萄糖苷(糖苷类)、 N_b -乙酰色胺和 N -丙酰色胺(生物碱类)。醋酸地塞米松为良好的肾上腺皮质激素药,具有显著的抗炎、抗过敏、抗休克作用,在临床上已被广泛使用;谷甾醇-3-*O*-葡萄糖苷对枯草芽孢杆菌等有抑制作用^[20],具有良好的生物活性; N_b -乙酰色胺对埃及希氏腹水癌细胞具有弱细胞毒性,对 PDF 酶有抑制作用,同时对 *E. faecium* 有抗菌活性^[21];对于 N -丙酰色胺的生物活性未见文献报道。其中 N_b -乙酰色胺和 N -丙酰色胺均为生物碱类物质,结构较为新颖,该类物质很少在放线菌代谢产物中被发现,对其生物活性研究相对较少,具有一定研究价值,对其后续生物活性等相关研究具有重要意义。

本研究结果可为新疆特殊环境嗜盐放线菌及其次生代谢产物的研究提供理论依据和技术支持,对新疆放线菌资源的开发具有重要意义。

参考文献

- 1 Liu BB (刘冰冰), Tang SK (唐蜀昆), Ming H (明红), *et al.* Biodiversity and functional enzymes of cultured Halophilic archaeon in Lop Nur region [J]. *Acta Microbiologica Sinica* (微生物学报), 2011, 51: 1222-1231.
- 2 Tian SZ (田守征), Liu K (刘凯), Xu LH (徐丽华), *et al.* Advances in bioresources and secondary metabolites of halophilic actinobacteria [J]. *Microbiology China* (微生物学通报), 2014, 41: 1882-1890.
- 3 Wang FZ, Tian XP, Huang CG, *et al.* Marinactinones A-C, new γ -pyrones from marine actinomycete *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00606 [J]. *J Antibiot*, 2011, 64: 189-192.
- 4 Huang HB, Yao YL, He ZX, *et al.* Antimalarial β -carboline and indolactam alkaloids from *marinactinospora thermotolerans*, a deep sea isolate [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74: 2122-2127.
- 5 Niu SW (牛四文), Li SM (李苏梅), Tian XP (田新朋), *et al.* Isolation and structural elucidation of secondary metabolites from marine *Streptomyces* sp. SCSIO1934 [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2011, 36: 1763-1768.
- 6 Zhu QH, Li J, Ma JY, *et al.* Discovery and engineered over-

- production of antimicrobial nucleoside antibiotic A201A from the deep-sea marine actinomycete *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652 [J]. *Antimicrob Agents and Chemother*, 2012, 56: 110-114.
- 7 Zhou X, Huang HB, Chen YC, *et al.* Marthiapeptide A, an anti-infective and cytotoxic polythiazole cyclopeptide from a 60 L scale fermentation of the deep sea-derived *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652 [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75: 2251-2255.
 - 8 Cao GX (曹国秀), Chen G (陈刚), Xu WF (徐文峰), *et al.* Isolation and identification of the secondary metabolites from marine actinomycete KSC2-1 [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2011, 28: 943-946.
 - 9 Huang SX, Zhao LX, Tang SK, *et al.* Erythronolides H and I, new erythromycin congeners from a new halophilic actinomycete *Actinopolyspora* sp. YIM 90600 [J]. *Organic Letters*, 2009, 11: 1353-1356.
 - 10 Zhao LX, Huang SX, Tang SK, *et al.* Actinopolysporins A-C and tubercidin as a Pdc4 stabilizer from the alopilic actinomycete *Actinopolyspora erythraea* YIM 90600 [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74: 1990-1995.
 - 11 Gao S (高升). Study on secondary metabolites of halophilic *Actinopolyspora* sp. YIM 90615 [D]. Kunming: Yunnan University (云南大学), 2013.
 - 12 Zhang YF (张越锋), Lyu LL (吕玲玲), Lu J (逯杰). Identification of actinomycetes TRM45037 in extreme environment and analysis of its secondary metabolites [J]. *J Biochem Mol Biol* (中国生物化学与分子生物学报), 2016, 32: 281-288.
 - 13 Guan TW (关统伟). Actinobacterial community structure in sediment from Lop Nur salt lake [J]. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2013, 19: 466-470.
 - 14 Bai XD (白雪冬), Wu M (吴敏), Li SY (李遂焰). Separation and identification of a novel Halophile [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2011, 23: 6-9.
 - 15 Richard W. Draper and Mohindar S. Puarb, Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of D-homoannulated 17-hydroxypregnane-20-ones [J]. *Steroids*, 1989, 7: 1-10.
 - 16 Isaev IM, Mamedova RP, Agzamova MA, and *et al.* Triterpene glycosides from astragalus and their genins. Lxxv. Sterols and triterpenoids from astragalus orbiculatus [J]. *Chem Nat Compd*, 2007, 43: 358-359.
 - 17 Pedras MS, Yu Y, Liu J, *et al.* Metabolites produced by the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*: isolation, chemical structure determination, syntheses and bioactivity [J]. *Z Naturforsch C*, 2005, 60: 717-722.
 - 18 Xie CL, Niu SW, Zhou TT, *et al.* Chemical constituents and chemotaxonomic study on the marine actinomycete *Williamsia* sp. MCCC1A11233 [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2016, 67: 129-133.
 - 19 Wang FZ, Tian XP, Huang CG, *et al.* Marinactinones A-C, new γ -pyrones from marine actinomycete *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00606 [J]. *J Antibiot*, 2011, 64: 189-192.
 - 20 Yang XF (杨秀芳), Wang GL (王改利), Ma YM (马养民), *et al.* Antimicrobial activity of compounds from *Geum aleppicum* [J]. *J Shaanxi Univ Sci & Tech* (陕西科技大学学报: 自科版), 2014, 32: 123-127.
 - 21 Wang H (王惠), Meng XL (孟晓露), Zhao XH (赵育卉), *et al.* Isolation and identification of an oil-producing halotolerant fungus *Salicornia* 5 and characterization of the fermentation products [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 2012, 36: 99-107.
-
- (上接第 1833 页)
- 54 Celik S, *et al.* Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) exhibits significant potential as an antidiabetic and liver-protective agent in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Pharm Res*, 2009, 60: 270-276.
 - 55 Lee, *et al.* CAPE (caffeic acid phenethyl ester) stimulates glucose uptake through AMPK (AMP-activated protein kinase) activation in skeletal muscle cells [J]. *Biochem & Biophys Res Commun*, 2007, 361: 854-860.
 - 56 Pei X (裴星), *et al.* Effects of sinapic acid on proliferation and apoptosis of rat vascular smooth muscle cells induced by high glucose [J]. *CJPP* (中国病理生理杂志), 2016, 32: 1174-1179.
 - 57 Qiang G, *et al.* Antidiabetic effect of salvianolic acid a on diabetic animal models via AMPK activation and mitochondrial regulation [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36: 395-408.
 - 58 Genaromattos TC, *et al.* Antioxidant activity of caffeic acid against iron-induced free radical generation—a chemical approach [J]. *PLoS One*, 2015, 10: 142402-142414.
 - 59 Mercedes A, *et al.* Antioxidative effect of lipophilized caffeic acid in fish oil enriched mayonnaise and milk [J]. *Food Chem*, 2015, 167: 236-244.
 - 60 Woranuch S, *et al.* Ferulic acid-coupled chitosan: thermal stability and utilization as an antioxidant for biodegradable active packaging film [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 22: 744-751.