

· 论著 ·

## 海绵共附生菌 *Streptomyces* sp. LHW2432 的次级代谢产物研究

张 柳, 沈瑶瑶, 洪丽莉, 李 蕾, 周永军, 林厚文(上海交通大学医学院附属仁济医院药学部, 上海 200127)

**[摘要]** 目的 从海绵共附生菌 *Streptomyces* sp. LHW2432 的发酵产物中发现药用活性分子。方法 采用正向硅胶柱、ODS 反向柱以及高效液相色谱分离技术, 对 LHW2432 的发酵萃取物进行分离纯化; 通过现代波谱技术和文献调研确定化合物结构; 利用平板涂布法和微量稀释法, 评价化合物对芽胞杆菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、耻垢分支杆菌、白色念珠菌和大肠杆菌的抑菌活性。结果 从 LHW2432 发酵物中共分离鉴定了 5 个化合物: descycloavandulyl-lavanduquinocin (1)、*N*-acetyltyramine (2)、phomapyrone C (3)、germicidin A (4) 和 germicidin I (5)。化合物 1 对 MRSA 和耻垢分支杆菌的最小抑菌浓度(MIC)值分别为 100 和 64  $\mu\text{g/ml}$ 。结论 从 LHW2432 菌中分离得到 5 个化合物, 其中, 化合物 1 是新天然产物, 可作为神经保护活性三环唑类生物碱的合成前体, 其对  $G^+$  菌有微弱的抑制活性。

**[关键词]** 海绵共附生菌; 链霉菌; 次生代谢产物; 抗菌活性

**[中图分类号]** R915

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2020)05-0418-05

**[DOI]** 10.12206/j.issn.1006-0111.202001071

## Study on secondary metabolites from sponge-symbiotic *Streptomyces* sp. LHW2432

ZHANG Liu, SHEN Yaoyao, HONG Lili, LI Lei, ZHOU Yongjun, LIN Houwen( Department of Pharmacy, Renji Hospital Affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China)

**[Abstract]** **Objective** To discover the medicinal active molecules from the fermentation extract of sponge-symbiotic *Streptomyces* sp. LHW2432. **Methods** Compounds were isolated and purified from the fermentation extract of LHW2432 by silica gel, ODS chromatographic columns, and HPLC. The structures of the compounds were elucidated based on the analyses of modern spectrum technologies and the related literatures research. Through plate coating method and broth microdilution method, the antimicrobial activities were tested by the indicator strains of *Bacillus mycoides*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Mycobacterium smegmatis*, *Candida Albicans*, and *Escherichia coli*. **Results** Five compounds were discovered and their structures were identified as descycloavandulyl-lavanduquinocin (1), *N*-acetyltyramine (2), phomapyrone C (3), germicidin A (4), and germicidin I (5). Compound 1 showed inhibitory activities against MRSA (MIC, 100  $\mu\text{g/ml}$ ) and *M. smegmatis* (MIC, 64  $\mu\text{g/ml}$ ), respectively. **Conclusion** Five compounds were discovered from LHW2432, among which compound 1 was a new natural product and could be used as a precursor of the tricyclic carbazole alkaloids with neuroprotective activity. Moreover, compound 1 showed weak inhibitory activities against gram-positive pathogenic bacteria.

**[Key words]** sponge-symbiotic bacterium; streptomyces; secondary metabolites; antimicrobial activity

放线菌是天然药用活性分子的重要源头<sup>[1]</sup>。然而, 近年陆生放线菌来源化合物的重复发现率日趋增高, 海洋来源放线菌因其特殊的生长环境和丰富的次生代谢产物越发引起关注<sup>[1-2]</sup>。

海绵作为代表性的海洋底栖共生生物体, 是产生功能分子的重要源头<sup>[3]</sup>。而越来越多的证据表明

共附生微生物是海绵化学多样性的重要来源<sup>[4-6]</sup>。因此, 开展海绵共附生微生物化学成分的研究, 寻找新颖的、具有活性功能的小分子化合物显得十分必要。

课题组从海绵共附生放线菌 *Streptomyces* sp. LHW2432 发酵物中发现了 2 个生物碱类化合物 1 和 2, 以及 3 个吡喃酮类化合物 3~5(图 1)。其中, 1 为新型天然产物, 具有抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耻垢分支杆菌的微弱活性, 并可作为合成神经细胞保护剂三环唑类生物碱的关键前体<sup>[7]</sup>。

**[基金项目]** 国家自然科学基金(31670096, 41729002)

**[作者简介]** 张 柳, 硕士研究生, Tel: 19121727090, Email: zhangliu2017@sjtu.edu.cn

**[通讯作者]** 林厚文, 博士, 教授, 研究方向: 海洋药物化学, Tel: 13801985620, Email: franklin67@126.com

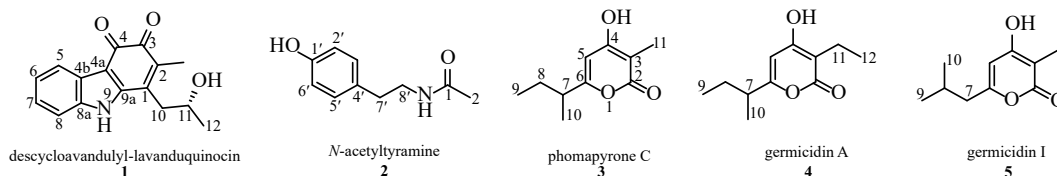


图1 化合物1~5的结构式

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器和材料

#### 1.1.1 实验仪器和试剂

Agilent 600 MHz 核磁共振仪(Agilent); Xevo G2-XS QTOF 质谱仪(Waters); Acquity UPLC 高效液相色谱仪(Waters); Interchim PuriFlash 450 中压色谱仪(Interchim); ODS(YMC, C<sub>18</sub>, 21.2 mm × 250 mm, 5 μm); XBridge C<sub>18</sub> 半制备型液相色谱柱(Waters, XBridge Prep C<sub>18</sub>, 10 mm × 250 mm, 5 μm); C<sub>18</sub> 制备型液相色谱柱(Phenomenex, Luna C<sub>18</sub>, 21.2 mm × 250 mm, 5 μm); N-1000 型旋转蒸发器(上海爱郎); SK5200H 型超声仪(上海科导); 振荡培养箱(上海知楚); 培养箱(上海博远)。色谱级溶剂(Merk); 分析纯试剂(上海化学试剂公司); 氘代试剂(Cambridge Isotope Laboratories)。

#### 1.1.2 培养基

TSBY 培养基: 胰蛋白胨大豆肉汤(30 g/L)、酵母提取物(5 g/L)、蔗糖(100 g/L)、消泡剂(1 ml/L); SFM 培养基: 低温黄豆饼粉(20 g/L)、琼脂(20 g/L)、甘露醇(20 g/L), pH 7.2~7.4; MH 培养基(Solarbio®); MH 肉汤(22 g/L); PDA 培养基: 马铃薯(200 g/L)、琼脂(20 g/L)、葡萄糖(20 g/L)。

#### 1.2 菌株来源及鉴定

链霉菌 LHW2432 分离自南海海绵(红色指状, 种属未鉴定, 本实验室编号 1524), 经 16S rRNA 基因序列(1376 bp) 比对, 与 *Streptomyces purpurascens* 相似度达 99.42%, 鉴定为链霉菌。

指示菌草状芽胞杆菌(*Bacillus mycoides*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CICC10201)、耻垢分支杆菌(*Mycobacterium smegmatis* mc2155)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和白色念珠菌(*Candida albicans*)均取自上海交通大学医学院仁济医院药学部海洋药物研究中心菌种库。

#### 1.3 发酵与萃取

将 LHW2432 接种于 SFM 平板, 30 °C 培养 5 d, 挑取单菌落接种于装有 10 ml TSBY 培养基的 100 ml 三角瓶中(加有不锈钢弹簧), 30 °C, 220 r/min

培养 3 d, 作为一级种子液; 一级种子液以 1 : 20 (V/V) 接种于装有 150 ml TSBY 培养基的 500 ml 三角瓶中(加有不锈钢弹簧), 30 °C, 220 r/min 培养 3 d, 该发酵液作为二级种子液, 继续同样条件的发酵, 最终得到 12 L 发酵液。用等体积乙酸乙酯萃取发酵液 3 次, 萃取液浓缩悬干后得到 11.3 g 浸膏。

#### 1.4 提取分离

通过正相硅胶柱色谱分离粗浸膏, 二氯甲烷-甲醇洗脱梯度: 150 : 1、100 : 1、80 : 1、50 : 1、25 : 1、15 : 1、5 : 1、1 : 1, 共得到 13 个馏分 A ~ M。合并 F 与 G 馏分(1.91 g 干重)后经中压 ODS 色谱柱继续分离 [乙腈-水(0.1% 甲酸): 5% ~ 95% 梯度洗脱, 6 h, 15 ml/min], 得到 16 个馏分 FG1 ~ FG16。

化合物 1(3.1 mg)和 4(7.7 mg)由 FG12(42.3 mg 干重)馏分经制备型 HPLC 分离获得, 洗脱条件为: 9 ml/min, 53% 甲醇-水(0.1% 甲酸)。

化合物 3(9.0 mg)和 5(2.1 mg)由 FG10(37.4 mg 干重)馏分经制备型 HPLC 分离获得。FG10 经洗脱 [9 ml/min, 42% 甲醇-水(0.1% 甲酸)] 得到化合物 3 和组分 FG10-5(7.5 mg 干重); 组分 FG10-5 进一步洗脱得到化合物 5, 洗脱条件为: 3 ml/min, 30% 乙腈-水(0.1% 甲酸)。

化合物 2(121 mg)分离自馏分 J。J 馏分(4.357 g 干重)经凝胶柱色谱 [流动相: 二氯甲烷-甲醇(1 : 1)] 砍断得到 5 个亚馏分 J1 ~ J5。选取 J4(1.112 g 干重)再经中压 ODS 柱色谱 [甲醇-水(0.1% 甲酸): 10% ~ 95% 梯度洗脱, 2 h, 15 ml/min] 分离获得化合物 2。

#### 1.5 抗菌活性测试方法

##### 1.5.1 平板涂布法

如表 1 所示, 将 200 μl~2 ml 过夜生长的 5 种指示菌的菌液加入水解酪蛋白琼脂培养基(MHA)或马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)中(约 50 °C)稀释, 摇匀后倒入培养皿中。待凝固后, 滴加溶解于 3 μl DMSO 溶液样品(约 10 μg), 设置一个阳性对照和一个 DMSO 阴性对照, 平板于相应条件培养 12 h 后观察抑菌圈(表 1)。

表1 5种指示菌平板培养条件及筛选的阳性对照药

指示菌	培养条件	阳性药
<i>B. mycooides</i> (蕈状芽胞杆菌)	MHA, 37 °C	万古霉素
<i>S. aureus</i> (金黄色葡萄球菌)	MHA, 37 °C	万古霉素
<i>M. smegmatis</i> (耻垢分枝杆菌)	MHA, 37 °C	卡那霉素
<i>E. coli</i> (大肠杆菌)	MHA, 37 °C	萘啶酮酸
<i>C. albicans</i> (白色念珠菌)	PDA, 30 °C	两性霉素

### 1.5.2 微量稀释法

使用肉汤稀释法进行96孔板实验<sup>[8]</sup>。样品和阳性对照药分别设置3个平行组,先将过夜培养的指示菌用MH肉汤培养基进行1000倍稀释后加入96孔板,每孔50 μl。第1列至第10列样品浓度依次为128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25 μg/ml。加样后37 °C培养18 h,通过分光光度计( $A_{600}$ )检测菌液澄清度。最后,根据实验结果调整测试药物浓度梯度,重复实验。

## 2 结构鉴定

化合物1:红棕色固体。ESI-MS  $m/z$  270.1133  $[M+H]^+$ (calcd for  $C_{16}H_{16}NO_3$ , 270.1125),提示其相对分子质量为269,推测该化合物结构中含有一个N原子,结合 $^1H$ -NMR和 $^{13}C$ -NMR确定其分子式为 $C_{16}H_{15}NO_3$ ,计算其不饱和度为8。 $^1H$ -NMR在低场区显示出4个芳烃质子信号 $\delta_H$  7.85 (1H, m)、7.51 (1H, m)、7.23 (2H, dd,  $J = 6.0, 3.1$  Hz),高场区显示2个甲基质子信号 $\delta_H$  1.92 (3H, s)和1.25 (3H, d,  $J = 6.1$  Hz),1个亚甲基质子信号 $\delta_H$  2.77 (2H, m),1个连氧次甲基质子信号 $\delta_H$  3.96 (1H, dt,  $J = 8.0, 6.1$  Hz); $^{13}C$ -NMR和DEPT谱,在低场区显示出2个羰基碳信号( $\delta_C$  172.8, 183.6)、4个芳基次甲基碳信号( $\delta_C$  113.4, 120.2, 123.9, 124.1),6个芳基或双键季碳信号( $\delta_C$  110.9, 125.7, 134.8, 137.1, 139.8, 146.5),在高场区显示出2个甲基碳信号( $\delta_C$  12.2, 23.8)、1个亚甲基碳信号( $\delta_C$  37.8)和1个连氧次甲基碳信号( $\delta_C$  65.9);将波谱信号进行归属, $^1H$ -NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.85 (m, H-5), 7.51 (m, H-8), 7.23 (dd,  $J = 6.0, 3.1$  Hz, H-6, 7), 3.96 (dt,  $J = 8.0, 6.1$  Hz, H-11), 2.76 (m, H-10), 1.92 (s, H-13), 1.25 (d,  $J = 6.1$  Hz, H-12)。 $^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  183.6 (C-3), 172.8 (C-4), 146.5 (C-9a), 139.8 (C-1), 137.1 (C-8a), 134.8 (C-2), 125.7 (C-4b), 124.1 (C-7), 123.9 (C-6), 120.2 (C-5), 113.4 (C-8), 110.9 (C-4a), 65.9 (C-11), 37.8 (C-10), 23.8 (C-12),

12.2 (C-13)。化合物数据与文献<sup>[9-10]</sup>报道一致,结构鉴定为咪唑-3,4-邻醌生物碱 desacycloavandulyl-lavanduquinocin。

化合物2:白色无定型粉末。ESI-MS  $m/z$  180.1022  $[M+H]^+$ (calcd for  $C_{10}H_{14}NO_2$ , 180.1019),相对分子质量为179,说明该化合物可能含有一个N原子,结合 $^{13}C$ -NMR确定其分子式为 $C_{10}H_{13}NO_2$ ,计算不饱和度为5。 $^1H$ -NMR中包含4个芳烃质子信号 $\delta_H$  6.97 (2H, m)、6.67 (2H, m),结合 $^{13}C$ -NMR中的6个双键碳信号,推断该化合物中含有一个对位二取代的苯环,其中一个碳信号( $\delta_C$  155.6)化学位移值向低场偏移,说明是一个连氧取代的芳基碳原子;归属该化合物的波谱信号, $^1H$ -NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.20 (brs, 1'-OH), 7.87 (t,  $J = 5.5$  Hz, 1-NH), 6.97 (m, H-3', H-5'), 6.67 (m, H-2', H-6'), 3.17 (m, H-8'), 2.56 (dd,  $J = 8.4, 6.6$  Hz, H-7'), 1.77 (s, H-2); $^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  169.1 (C-1), 155.6 (C-1'), 129.6 (C-4'), 129.5 (C-1', C-5'), 115.1 (C-2', C-6'), 40.6 (C-8'), 34.5 (C-7'), 22.7 (C-2)。与文献数据<sup>[11-12]</sup>比对,该化合物被鉴定为N-乙酰酪胺(N-acetyltyramine)。

化合物3:淡黄色固体。ESI-MS  $m/z$  183.1028  $[M+H]^+$ (calcd for  $C_{10}H_{15}O_3$ , 183.1016),提示其相对分子质量为182,结合 $^1H$ 和 $^{13}C$ -NMR数据推测其分子式为 $C_{10}H_{14}O_3$ ,不饱和度为4。 $^1H$ -NMR的低场区显示出一个双键质子信号 $\delta_H$  5.95 (1H, s),高场区显示3个甲基质子信号 $\delta_H$  0.81 (3H, t,  $J = 7.4$  Hz)、1.10 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz)和1.73 (3H, s),1对亚甲基质子信号 $\delta_H$  1.54 (1H, m)、1.44 (1H, m),1个次甲基质子信号 $\delta_H$  2.43 (1H, m); $^{13}C$ -NMR和DEPT谱显示共有10个碳信号,包括4个双键或羰基季碳信号,1个 $sp^2$ 杂化的双键次甲基碳信号,1个 $sp^3$ 杂化的次甲基碳信号,1个 $sp^3$ 杂化的亚甲基碳信号,3个甲基碳信号。如下为化合物的波谱信号归属, $^1H$ -NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  5.95 (s, H-5), 2.43 (m, H-7), 1.73 (s, H-11), 1.54 (m, H-8a), 1.44 (m, H-8b), 1.10 (d,  $J = 6.9$  Hz, H-10), 0.81 (t,  $J = 7.4$  Hz, H-9)。 $^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  165.8 (C-2), 165.5 (C-4), 165.2 (C-6), 98.9 (C-5), 96.2 (C-3), 38.7 (C-7), 26.9 (C-8), 17.7 (C-10), 11.3 (C-9), 8.5 (C-11)。结合比对文献<sup>[13]</sup>核磁谱图数据,该化合物鉴定为phomapyrone C。

化合物4:棕色固体。ESI-MS  $m/z$  197.1181  $[M+H]^+$ (calcd for  $C_{11}H_{17}O_3$ , 197.1172),提示其相对

分子质量为 196, 结合<sup>1</sup>H 和<sup>13</sup>C-NMR 数据推测其分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>, 不饱和度为 4。比较化合物 4 和 3 的核磁数据, 发现 4 的<sup>1</sup>H-NMR 低场区存在一个双键质子信号 δ<sub>H</sub> 5.95 (1H, s), <sup>13</sup>C-NMR 低场区存在 4 个双键或羰基季碳信号 (δ<sub>C</sub> 165.8, 165.2, 164.7, 102.5)、1 个双键次甲基碳信号 (δ<sub>C</sub> 98.8), 这些核磁数据与化合物 3 的吡喃-2-酮单元的数据基本一致, 提示其存在一个相同的骨架结构。化合物 4 和 3 的结构不同之处在于, 化合物 4 的<sup>1</sup>H 和<sup>13</sup>C-NMR 数据中多一个亚甲基信号 (δ<sub>H</sub> 2.26, δ<sub>C</sub> 16.2)。其信号具体归属如下: <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 5.93 (s, H-5), 2.42 (m, H-7), 2.26 (q, *J* = 7.4 Hz, H-11), 1.55 (m, H-8a), 1.44 (m, H-8b), 1.10 (d, *J* = 6.9 Hz, H-10), 0.94 (t, *J* = 7.4 Hz, H-12), 0.81 (t, *J* = 7.4 Hz, H-9)。<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 165.8 (C-2), 165.2 (C-4), 164.7 (C-6), 102.5 (C-3), 98.8 (C-5), 38.7 (C-7), 26.8 (C-8), 17.6 (C-10), 16.2 (C-11), 12.6 (C-12), 11.4 (C-9)。以上数据与文献 [14] 基本一致, 故被鉴定为 germicidin A。

化合物 5: 棕色固体。ESI-MS 显示 [M+ H]<sup>+</sup> 分子离子峰 *m/z* 183.1021 (calcd for C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub>, 183.1016), 确定其相对分子质量为 182, 结合<sup>1</sup>H 和<sup>13</sup>C-NMR 数据确定其分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>, 不饱和度为 4。该化合物氢谱存在一个双键质子 δ<sub>H</sub> 5.95 (1H, s) 信号, 碳谱存在 4 个季碳信号 (δ<sub>C</sub> 165.8, 165.2, 164.7, 102.5)、1 个双键次甲基碳信号 (δ<sub>C</sub> 98.8), 提示其含有和化合物 3 一样的吡喃-2-酮骨架结构。化合物 5 和 3 的分子量相同, 是同分异构体, 但其<sup>1</sup>H 和<sup>13</sup>C-NMR 数据中存在特征性的偕甲基信号 [δ<sub>H</sub> 0.88 (H-9, H-10), δ<sub>C</sub> 21.9 (C-9, C-10)]。具体的信号归属如下: <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 5.92 (s, H-5), 2.25 (d, *J* = 7.2 Hz, H-7), 1.90 (m, H-8), 1.72 (s, H-11), 0.88 (d, *J* = 6.6 Hz, H-9, H-10)。<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 165.3 (C-2), 165.2 (C-4), 161.2 (C-6), 101.1 (C-5), 95.9 (C-3), 41.7 (C-7), 26.3 (C-8), 21.9 (C-9), 21.9 (C-9), 8.5 (C-11)。以上数据与文献 [15] 基本一致, 故被鉴定为 germicidin I。

### 3 抗菌活性测试结果

#### 3.1 活性初筛

平板涂布结果显示: 化合物 1 仅对 MRSA 和耻垢分支杆菌出现中等大小抑菌圈, 阳性药物对相应指示菌均产生显著大小抑菌圈, 其他化合物未使 5 种指示菌产生明显抑菌圈。

#### 3.2 检测化合物 1 的 MIC 值

根据初筛结果, 以 MRSA 和耻垢分支杆菌为指示菌, 采用微量稀释法, 最终确定化合物 1 对 MRSA 和耻垢分支杆菌的 MIC 值分别为 100 和 64 μg/ml。

### 4 讨论

生物碱是一类含氮的天然药用分子, 抗癌药紫杉醇、止痛药吗啡和抗疟疾的奎宁类药物均属此类<sup>[16]</sup>。文献报道, 具有脂肪族侧链的三环咪唑生物碱可通过自由基清除作用保护神经细胞<sup>[9,17-18]</sup>, 例如 lavanduquinocin, neocarazostatins 和 carquinostatins<sup>[7,19-20]</sup>。

课题组以一株中国南海海绵共附生链霉菌 *Streptomyces* sp. LHW2432 为研究对象, 发现了 2 个生物碱类化合物 1 和 2, 以及 3 个吡喃酮类化合物 3~5 (图 1)。化合物 2 此前发现于真菌和放线菌中<sup>[21-22]</sup>, 具有自由基清除功能<sup>[23]</sup>。有报道化合物 3~5 在链霉菌形态分化中具有抑制产孢的功能<sup>[24]</sup>。化合物 1 为三环咪唑生物碱类新天然产物, 课题组发现其具有抑制 MRSA 和耻垢分支杆菌的微弱活性。此外, 化合物 1 可作为化学合成药用活性三环咪唑类生物碱的重要前体<sup>[9]</sup>, 本研究首次发现了产生化合物 1 的宿主菌, 为通过发酵手段廉价获取该中间体分子提供了可能。

### 【参考文献】

- [1] YANG C F, QIAN R, XU Y, et al. Marine actinomycetes-derived natural products[J]. *Curr Top Med Chem*, 2019, 19(31): 2868-2918.
- [2] FENICAL W, JENSEN P R. Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria[J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2(12): 666-673.
- [3] BLUNT J W, CARROLL A R, COPP B R, et al. Marine natural products[J]. *Nat Prod Rep*, 2018, 35(1): 8-53.
- [4] THOMAS T, MOITINHO-SILVA L, LURGI M, et al. Diversity, structure and convergent evolution of the global sponge microbiome[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11870.
- [5] MORI T, CAHN J K B, WILSON M C, et al. Single-bacterial genomics validates rich and varied specialized metabolism of uncultivated *Entotheonella* sponge symbionts[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(8): 1718-1723.
- [6] TIANERO M D, BALAIKH J N, DONIA M S. Localized production of defence chemicals by intracellular symbionts of *Haliclona* sponges[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(7): 1149-1159.
- [7] CHOSHI T, UCHIDA Y, KUBOTA Y, et al. Lipase-catalyzed asymmetric synthesis of desprenyl-carquinostatin A and descycloavandulyl-lavanduquinocin[J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(7): 1060-1064.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilu-

- tion antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-eighth edition[M]. CLSI document M07-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
- [9] FURUKAWA Y, SAWAMOTO A, YAMAOKA M, et al. Effects of carbazole derivatives on neurite outgrowth and hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in Neuro2a cells[J]. *Molecules*, 2019, 24(7): E1366.
- [10] KOBAYASHI M, TOMITA T, SHIN-YA K, et al. An unprecedented cyclization mechanism in the biosynthesis of carbazole alkaloids in *Streptomyces* [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(38): 13349-13353.
- [11] GUTIÉRREZ M, CAPSON T L, GUZMÁN H M, et al. Antiplasmodial metabolites isolated from the marine octocoral *Muricea austera* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(10): 1379-1383.
- [12] 陈明华, 巫晔翔, 董飏, 等. 链霉菌CPC 202950的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1320-1324.
- [13] SOLEDADE M, PEDRAS C, MORALES V M, et al. Phomapyrones: Three metabolites from the blackleg fungus [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(5): 1315-1318.
- [14] 王聪, 王立平, 范杰, 等. 深海链霉菌*Streptomyces malaysiensis* OUCMDZ-2167来源的细胞毒性产物[J]. 有机化学, 2017, 37(3): 658-666.
- [15] MA M, RATEB M E, YANG D, et al. Germicidins H-J from *Streptomyces* sp. CB00361 [J]. *J Antibiot*, 2017, 70(2): 200-203.
- [16] BUTLER M S, ROBERTSON A A B, COOPER M A. Natural product and natural product derived drugs in clinical trials [J]. *Nat Prod Rep*, 2014, 31(11): 1612-1661.
- [17] SCHMIDT A W, REDDY K R, KNÖLKER H J. Occurrence, biogenesis, and synthesis of biologically active carbazole alkaloids [J]. *Chem Rev*, 2012, 112(6): 3193-3328.
- [18] KNÖLKER H J, REDDY K R. Isolation and synthesis of biologically active carbazole alkaloids [J]. *Chem Rev*, 2002, 102(11): 4303-4427.
- [19] KATO S, SHINDO K, KATAOKA Y, et al. Studies on free radical scavenging substances from microorganisms. II. Neocarazostatins A, B and C, novel free radical scavengers [J]. *J Antibiot*, 1991, 44(8): 903-907.
- [20] SHIN-YA K, KUNIGAMI T, KIM J S, et al. Carquinostatin B, a new neuronal cell-protecting substance produced by *Streptomyces exfoliatus* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1997, 61(10): 1768-1769.
- [21] SOBOLEVSKAYA M P, DENISENKO V A, MOISEENKO A S, et al. Bioactive metabolites of the marine actinobacterium *Streptomyces* sp. KMM 7210 [J]. *Russ Chem Bull*, 2007, 56(4): 838-840.
- [22] 何其伟, 刘吉开, 杜子伟, 等. 齿贝栓菌的化学成分 [J]. 安徽中医学院学报, 2011, 30(2): 73-76.
- [23] HEIDARI B, MOHAMMADIPANAH F. Isolation and identification of two alkaloid structures with radical scavenging activity from *Actinokineospora* sp. UTMC 968, a new promising source of alkaloid compounds [J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(6): 2325-2332.
- [24] PETERSEN F, ZÄHNER H, METZGER J W, et al. Germicidin, an autoregulative germination inhibitor of *Streptomyces viridochromogenes* NRRL B-1551 [J]. *J Antibiot*, 1993, 46(7): 1126-1138.
- [收稿日期] 2020-01-15 [修回日期] 2020-03-27  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 403 页)

- [43] 杨明炜, 陈锋, 朱定俊, 等. 苦参碱氯化钠注射液治疗40例新型冠状病毒肺炎的临床疗效分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2221-2231.
- [44] 尹明星, 曹艳, 施春阳, 等. 中药防治细胞因子风暴的研究进展[J]. *中草药*, 2020, 51(5): 1089-1095.
- [45] 何黎黎, 龚贵阳, 封玥, 等. 中药在抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)引起的细胞因子风暴中的应用分析[J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1375-1385.
- [46] 黄晶, 张冰, 林志健. 中药对白介素类细胞因子的影响及其在防治COVID-19炎症风暴中的思考[J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(2): 23-28.
- [47] 徐凯进, 蔡洪流, 沈毅弘, 等. 2019冠状病毒病(COVID-19)诊疗浙江经验[J]. 浙江大学学报(医学版), 2020, 49(2): 147-157.
- [48] GOLCHIN A, SEYEDJAFARI E, ARDESHIRYLAJIMI A. Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: present or future [J]. *Stem Cell Rev And Rep*, 2020, 16(3): 427-433.
- [49] LENG Z K, ZHU R J, HOU W, et al. Transplantation of ACE2-mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia [J]. *Aging Dis*, 2020, 11(2): 216-228.
- [50] GREIN J, OHMAGARI N, SHIN D, et al. Compassionate use of remdesivir for patients with severe covid-19 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(24): 2327-2336.
- [51] WANG Y, ZHANG D, DU G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial [J]. *Lancet*, 2020, 395(10236): 1569-1578.
- [52] GELERIS J, SUN Y F, PLATT J, et al. Observational study of hydroxychloroquine in hospitalized patients with COVID-19 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(25): 2411-2418.
- [53] HOFFMANN M, SCHROEDER S, KLEINE-WEBER H, et al. Nafamostat mesylate blocks activation of SARS-CoV-2: new treatment option for COVID-19 [J/OL]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64(6): e00754-20. (2020-04-21)[2020-05-10]. <https://doi.org/10.1128/aac.00754-20>.
- [54] YAMAMOTO M, MATSUYAMA S, LI X, et al. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome coronavirus S protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(11): 6532-6539.
- [55] JIN Z M, DU X Y, XU Y C, et al. Structure of M<sup>pro</sup> from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors [J]. *Nature*, 2020, 582(7811): 289-293.
- [56] DAI W, ZHANG B, SU H, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease [J]. *Science*, 2020, 368(6497): 1331-1335.
- [收稿日期] 2020-05-15 [修回日期] 2020-06-28  
[本文编辑] 李春德