

## • 天然产物生物合成 •

**颜晓晖** 2012 年于德国弗莱堡大学获得博士学位，其后在美国斯克利普斯研究所化学系完成博士后研究。2019 年 2 月受聘于天津中医药大学，同年入选天津市特聘教授青年学者。主要从事微生物天然产物发现和生物合成途径研究，利用基因组挖掘策略发现了具有极佳成药性的烯二炔天然产物天赐霉素和洋浦霉素，在 *mBio*、*Org Lett*、*Cell Chem Biol*、*J Nat Prod* 等杂志发表 SCI 论文 30 余篇。



**朱湘成** 博士，中南大学湘雅国际转化医学联合研究院研究员、实验室主任。从事微生物天然产物的合成生物学研究和新药开发，主要围绕重要药物先导物的资源发掘、生物合成和调控机制研究、产量提升和高效合成体系构建、以及规模化制备等方向进行系统地应用和转化型研究。已在 *Biotechnol Bioeng*、*ACS Synth Biol* 和 *J Nat Prod* 等各类国际期刊上发表 SCI 论文 80 余篇。



# 新型 angucycline/angucyclinone 类天然产物的研究进展 (2010–2020)

张景琰<sup>1</sup>，段燕文<sup>1,2,3</sup>，朱湘成<sup>1,2,3</sup>，颜晓晖<sup>1,4</sup>

- 1 中南大学 湘雅国际转化医学联合研究院，湖南 长沙 410013
- 2 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 410011
- 3 新药组合生物合成国家地方联合工程研究中心，湖南 长沙 410011
- 4 天津中医药大学 组分中药国家重点实验室，天津 301617

张景琰，段燕文，朱湘成，等. 新型 angucycline/angucyclinone 类天然产物的研究进展 (2010–2020). 生物工程学报, 2021, 37(6): 2147-2165.

Zhang JY, Duan YW, Zhu XC, et al. Novel angucycline/angucyclinone family of natural products discovered between 2010 and 2020. Chin J Biotech, 2021, 37(6): 2147-2165.

**摘要:** Angucycline/angucyclinone 类天然产物是 II 型聚酮类化合物中一个庞大的家族，其产生菌广泛存在

**Received:** January 11, 2021; **Accepted:** March 16, 2021

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 81872779), Central South University Graduate Research Innovation Project (No. 2020zzts837).

**Corresponding authors:** Xiaohui Yan. Tel: +86-731-82650539; E-mail: yanxh@tjutcm.edu.cn

Xiangcheng Zhu. Tel: +86-731-82650539; E-mail: seanzhu@csu.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 81872779)，中南大学研究生科研创新项目 (No. 2020zzts837) 资助。

于自然界中。由于这类化合物具有丰富的生物活性和独特的化学结构，吸引了众多科学家的浓厚兴趣。随着合成生物学的发展和特殊环境来源放线菌资源的开发，不断有新骨架的 angucycline/angucyclinone 类天然产物被发现，极大地丰富了这一家族天然产物的结构多样性。本文对 2010–2020 年期间，利用改变培养条件、基因改造、基因组挖掘、活性导向、特殊环境来源放线菌培养等不同策略从放线菌中所发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物进行综述，并对合成生物学方法在这类化合物的发现和开发中的作用进行了讨论。

**关键词:** angucycline/angucyclinone, 培养条件, 基因改造, 基因组挖掘, 活性导向, 特殊环境来源放线菌

## Novel angucycline/angucyclinone family of natural products discovered between 2010 and 2020

Jingyan Zhang<sup>1</sup>, Yanwen Duan<sup>1,2,3</sup>, Xiangcheng Zhu<sup>1,2,3</sup>, and Xiaohui Yan<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Xiangya International Academy of Translational Medicine, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China

<sup>2</sup> Hunan Engineering Research Center of Combinatorial Biosynthesis and Natural Product Drug Discovery, Changsha 410011, Hunan, China

<sup>3</sup> National Engineering Research Center of Combinatorial Biosynthesis for Drug Discovery, Changsha 410011, Hunan, China

<sup>4</sup> State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Abstract:** Angucyclines/angucyclinones are a large group of polycyclic aromatic polyketides and their producers are widely distributed in nature. This family of natural products attracts great attention because of their diverse biological activities and unique chemical structures. With the development of synthetic biology and the exploitation of the actinomycetes from previously unexplored environments, angucyclines/angucyclinones-like natural products with new skeletons were continuously discovered, thus enriching the structural diversity of this family. In this review we summarize the new angucyclines/angucyclinones analogues discovered in the last decade (2010–2020) by using different strategies, such as changing cultivation conditions, genetic modification, genome mining, bioactivity-guided compound isolation, and fermentation of actinomycetes from underexplored environments. We also discuss the role of synthetic biology in the discovery and development of new compounds of the angucycline/angucyclinone family.

**Keywords:** angucycline/angucyclinone, cultivation conditions, genetic modification, genome mining, bioactivity-guided discovery, actinomycetes from previously unexplored environments

Angucycline/angucyclinone 类天然产物是从不同放线菌中分离出来的一类芳香聚酮化合物<sup>[1]</sup>, 主要由 II 型聚酮合酶 (Type II polyketide synthase, Type II PKS) 利用 1 个启动单元 (乙酰辅酶 A) 和 9 个延伸单元 (丙二酰辅酶 A) 来合成其分子骨架<sup>[2]</sup>。Angucycline 和 angucyclinone 的区别在于母核上是否有糖基连接, angucycline 特指母核上有糖基取代的 angucyclinone<sup>[3]</sup>。典型的 angucycline/angucyclinone 类化合物都包含 1 个角环蒽醌母核, 譬如 landomycins A (1)、B (2)、D (3)

和 E (4)<sup>[4-5]</sup>、urdamycins A (5) 和 B (6)<sup>[6]</sup>, 以及 hatomarubigins A (7) 和 B (8)<sup>[7]</sup>; 非典型的此类化合物是指角环蒽醌中间体或被氧化的蒽醌环经过重排后形成的化合物, 例如 gilvocarcins M (9) 和 V (10)<sup>[8]</sup>以及 kinamycins A–C (11–13)<sup>[9]</sup>等。Angucycline/angucyclinone 类天然产物具有广泛的生物活性, 如抗菌、抗肿瘤、抗病毒、抗血小板聚集等, 由于其独特的分子结构和良好的生物活性一直都是药物开发研究的重点之一, 但因毒性较大或溶解度太低等问题未开发成为临床药物<sup>[2]</sup>。

从产蓝链霉菌 *Streptomyces cyanogenus* S-136 中分离的化合物 **1**<sup>[4]</sup>是目前这一家族中活性最好、最具发展前景的抗肿瘤药物先导物,其对许多癌细胞表现出的良好活性很可能与较长的糖链有关<sup>[2]</sup>(图1)。

放线菌是活性天然产物的重要来源,全基因组测序进一步揭示了放线菌中存在丰富的天然产物生物合成基因簇 (Biosynthetic gene clusters, BGCs)<sup>[10]</sup>,平均每个菌株中大约有 20–30 个基因簇,但大多数次级代谢 BGCs 一般处于沉默状态<sup>[11–12]</sup>。通过改变培养条件、对调控基因或结构基因进行编辑、核糖体工程、基因组挖掘、活性导向的新产物发现,以及筛选来自特殊生态环境的放线菌和化学方法等策略可以发现新的 angucycline/angucyclinone 类化合物。在过去的几十年中,有一系列关于 angucycline/angucyclinone 类化合物的发现、生物合成、化学合成、生物活性等方面的综述性文章被发表。例如 1988 年 Yang 等发表了题为“苯并蒽醌类抗生菌的研究进展”的综述文章<sup>[13]</sup>;1992 年, Rohr 等发表了题为“Angucycline group antibiotics”的综述<sup>[1]</sup>;1997 年, Krohn 等发表了题为“Angucyclines: Total syntheses, new structures, and biosynthetic studies of an emerging new class of antibiotics”的综述文

章,总结了 1991–1996 年期间该类化合物的进展<sup>[14]</sup>;2007 年, Wang 等发表题为“Angucycline/Angucyclinone 类抗生菌的研究进展”的综述,对 1996 年 6 月后发现的 angucycline/angucyclinone 类化合物的结构和发现方法进行了详细总结<sup>[3]</sup>;2012 年, Kharel 发表“Angucyclines: Biosynthesis, mode-of-action, new natural products, and synthesis”的综述,对 1996–2010 年期间这类化合物的发现、生物合成研究、化学合成、活性等方面的进展进行了系统总结<sup>[2]</sup>。在过去的 10 年中,随着基因组测序、生物信息学分析和合成生物学技术的快速发展,又有许多新的 angucycline/angucyclinone 类化合物被发现,但目前还没有对这些新发现化合物的结构、活性、发现策略等方面的系统阐述。针对这一现状,本综述从 angucycline/angucyclinone 类化合物的发现策略着手,总结了 2010–2020 年期间关于这类化合物的结构和活性方面的研究进展。

## 1 基于 OSMAC 策略发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物

单菌株多次级代谢产物 (One strain many compounds, OSMAC) 策略主要是通过改变发酵

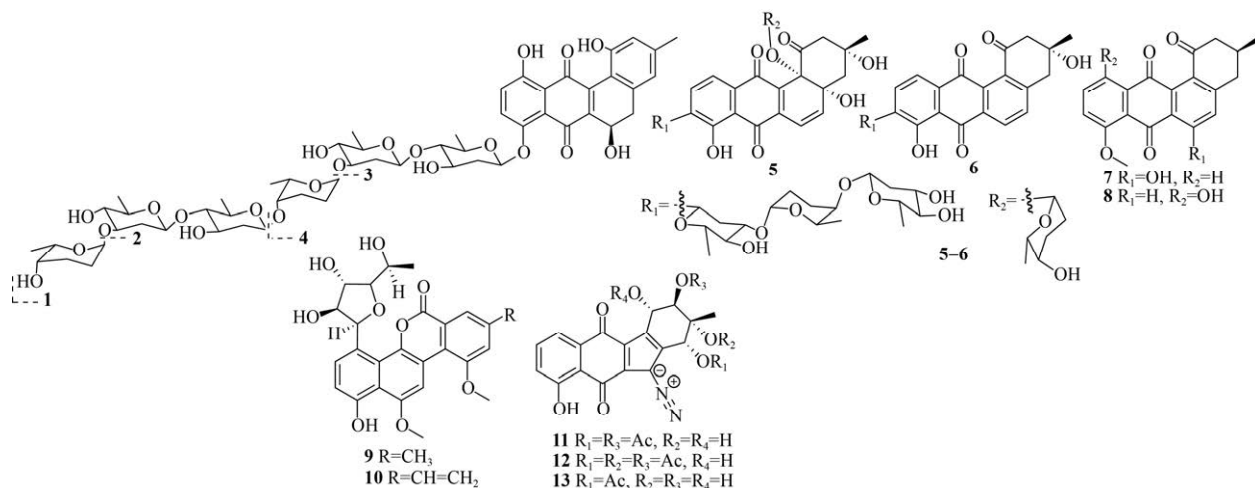


图1 Angucycline/angucyclinone 类代表化合物的化学结构 (1–13)

Fig. 1 Chemical structures of representative angucyclines/angucyclinones (1–13).

条件,如培养基成分和各种培养参数(温度、pH值、树脂和溶氧等),以及添加不同的刺激物或生物合成前体等来激活沉默基因簇以发现特定微生物菌株中的不同化合物<sup>[15-16]</sup>。该策略操作简单,无需对菌株的遗传背景有深入了解,在各类微生物天然产物的开发中得到了广泛应用,也是目前发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物的重要手段。

### 1.1 改变培养基成分或添加树脂

通过改变培养基成分或者在已有发酵培养基中添加树脂可以增加 angucycline/angucyclinone 类天然产物的结构多样性。Guo 等从健康稻蝗肠道来源的拟无枝酸菌 *Amycolatopsis* sp. HCa1 中分离到 angucycline 和 tetrasaccharide 类衍生物,随后又通过改变发酵培养基成分得到 2 个新化合物 amycomycins A (**14**) 和 B (**15**),其中 **14** 是角环被打开形成链状结构的 angucyclinone 类化合物<sup>[17]</sup>。Helaly 等通过筛选对酸碱度具有不同耐受性的链霉菌,并对其在不同复杂培养基中的代谢物进行分析,从耐碱的链霉菌 Acta 2930 中分离得到 warkmycin A (**16**),它不仅能够抑制革兰氏阳性菌的生长,对小鼠成纤维细胞 NIH-3T3、人肝癌细胞 HepG2 以及人结肠癌细胞 HT-29 的半数抑制浓度 (Half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>) 分别为 2.74、1.26 和 1.61 μmol/L,也表现出较强的细胞毒性<sup>[18]</sup>。Abdelmohsen 等通过对不同培养基中的代谢组学进行统计分析,确定了放线动孢菌属菌株 *Actinokineospora* sp. EG49 合成代谢物的最佳培养条件,并从中分离得到 2 个经过重排形成的新型 angucycline 类化合物 actinosporins A (**17**) 和 B (**18**),其中 **17** 对布鲁氏锥虫 *Trypanosoma brucei brucei* 的 IC<sub>50</sub> 值为 15 μmol/L,这也是首次从放线动孢菌属菌株分离得到的 angucycline 类天然产物<sup>[19]</sup>。Ma 等通过对比链霉菌 CB01913 在 4 种不同发酵培养基中次级代谢产物的丰富程度,

选择 1 种进行扩大发酵,最终分离得到 1 个新型 angucycline (**19**) 和 11 个新型 angucyclinone (**20-30**) 类化合物,**19** 和之前报道的 TAN-1085<sup>[1]</sup> 是仅有的 2 个在 C-6 上连接糖单元的 angucycline 类天然产物<sup>[20]</sup>。Qu 等通过使用不同发酵培养基从海洋来源的链霉菌 OC1610.4 中分离得到 vineomycins E (**31**) 和 F (**32**),其中 **31** 含有 1 种罕见的脱氧糖,它对 3 种人乳腺癌细胞 MCF-7 (IC<sub>50</sub> 为 6.07 μmol/L)、MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 为 7.72 μmol/L) 和 BT-474 (IC<sub>50</sub> 为 4.27 μmol/L) 均有较好的抑制作用;**32** 含有独特的环裂解脱氧糖,但抗肿瘤活性较弱<sup>[21]</sup>。Wu 等首先基于菌株的色素沉积从链霉菌 QL37 中分离到异于经典 angucycline 分子骨架的 lugdunomycin (**33**),它包括 1 个七环、1 个螺旋体、2 个全碳立体中心和 1 个 benzaza[4,3,3]螺桨烷主体,结构十分新颖<sup>[22]</sup>。随后他们又利用基于 LC-MS/MS 的分子网络方法筛选了该菌在 77 种不同培养基中产生的代谢产物,最终鉴别出 9 个新的、具有独特的环重排、氧化、还原和酰胺化的 angucycline 类天然产物 (**34-42**)<sup>[22]</sup>。Bae 等通过改变发酵培养基从海洋沉积物来源的链霉菌 SUD119 中分离得到 C 环经过重排的新型 angucyclinone 类化合物 donghaecyclinones A-C (**43-45**),其中 **44** 对人肝癌细胞 SK-HEP1 (IC<sub>50</sub> 为 9.6 μmol/L),**45** 对人结肠癌细胞 HCT-116 (IC<sub>50</sub> 为 8.0 μmol/L)、MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 为 6.7 μmol/L)、人胃癌细胞 SNU-638 (IC<sub>50</sub> 为 9.5 μmol/L)、人肺癌细胞 A549 (IC<sub>50</sub> 为 9.6 μmol/L) 和 SK-HEP1 (IC<sub>50</sub> 为 6.0 μmol/L) 均有较强的抑制作用,**43** 对这些肿瘤细胞的抑制作用相对较弱<sup>[23]</sup>。Fang 等通过在发酵培养基中添加 HP20 大孔树脂从棘孢小单孢菌 *Micromonospora echinospora* SCSIO 04089 中分离得到 6 个新型 angucyclinone 类化合物 homophenanthroviridone (**46**)、homophenanthridonamide (**47**)、homostealthin D

(48)、nenesfuran (49)、WS-5995 D (50) 和 nenesophanol (51), 其中 46 对人神经癌细胞 SF-268 ( $IC_{50}$  为 5.4  $\mu\text{mol/L}$ )、MCF-7 ( $IC_{50}$  为 6.8  $\mu\text{mol/L}$ ) 和 HepG2 ( $IC_{50}$  为 1.4  $\mu\text{mol/L}$ ), 47 对 HepG2 ( $IC_{50}$  为 4.0  $\mu\text{mol/L}$ ) 具有较好活性<sup>[24]</sup>; 此外 46 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin resistant

*Staphylococcus aureus*, MRSA) shhs-A1、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213、苏云金芽孢杆菌 SCSIO BT01、枯草芽孢杆菌 1064 以及溶壁微球菌 SCSIO ML01 的最低抑菌浓度 (Minimum inhibitory concentration, MIC) 分别为 2、2、4、4 和 4  $\mu\text{g/mL}$ , 均具有较强的抑制作用<sup>[24]</sup> (图 2)。

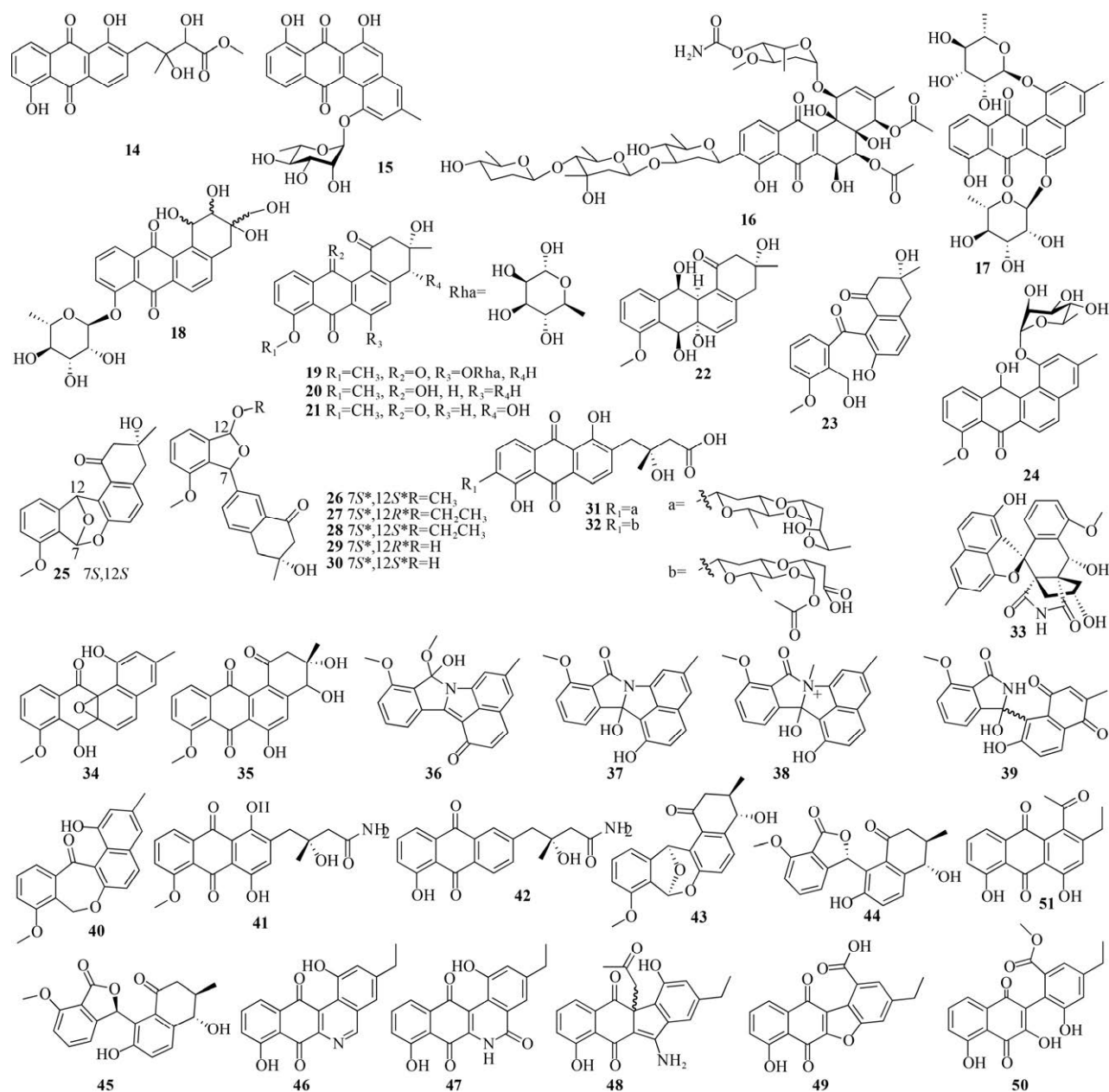


图 2 基于 OSMAC 策略发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (14–51)

Fig. 2 Novel angucyclines/angucyclinones discovered via the OSMAC strategy (14–51).

## 1.2 添加诱导物或生物合成前体

在培养基中添加不同的化学诱导物或生物合成前体是一种非常简单和高效的用于改善或刺激微生物次生代谢的策略。为了发现新的次级代谢物并扩大“金属压力”策略的使用, Akhter 等将不同的重金属离子应用于海洋来源的草生链霉菌 *Streptomyces pratensis* NA-ZhouS1 的发酵培养基中, 通过添加 100  $\mu\text{mol/L}$  金属镍离子, 分离得到 2 个在角环萜醌核上连有水解糖单元的 stremycins A (52) 和 B (53), 这是首次通过“金属压力应激技术”发现的新型 angucycline 类化合物, 它们对铜绿假单胞菌 CMCC (B) 10104、MRSA、肺炎克雷伯菌 CMCC (B) 46117 和大肠杆菌 CMCC (B) 44102 具有相同的抑菌活性, MIC 值为 16  $\mu\text{g/mL}$ ; 而对枯草芽孢杆菌 CMCC (B) 63501 的 MIC 值为 8–16  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[25]</sup>。Xu 等通过在海绵来源稀有放线菌诺卡氏菌 *Nocardopsis* sp. HB-J378 的培养基中添加  $\text{LaCl}_3$ , 从中分离得到 nocardiosistins A–C (54–56), 它们对 MRSA 表现出不同的抑制作用, MIC 值分别为 12.5、3.12 和 12.5  $\mu\text{g/mL}$ , 其中 55 的活性与氯霉素相当<sup>[26]</sup>。Guo 等通过在链霉菌 KCB-132 的生产培养基中添加  $\text{LaCl}_3$ , 从中分离得到具有氮杂环的对映异构体( $\pm$ )-pratensilin D (57)、具有桥醚结构的 kiamycin E (58) 和 A 环裂解的 pratensinon A (59), 其中 (+)-57 和 (–)-57 对人肺癌细胞 NCI-H460 ( $\text{IC}_{50}$  分别为 9.4 和 4.9  $\mu\text{g/mL}$ )、(–)-57 对 HepG2 ( $\text{IC}_{50}$  为 9.3  $\mu\text{g/mL}$ ) 以及 59 对结肠癌细胞 Colon38 ( $\text{IC}_{50}$  为 7.3  $\mu\text{g/mL}$ ) 和人宫颈癌细胞 Hela ( $\text{IC}_{50}$  为 10.3  $\mu\text{g/mL}$ ) 具有较强细胞毒性; 另外 (–)-57 对蜡样芽孢杆菌 (MIC 为 4  $\mu\text{g/mL}$ ) 具有较强的抑制作用<sup>[27]</sup>。

Fan 等通过在委内瑞拉链霉菌 *Streptomyces venezuelae* ISP5230 发酵培养基中添加不同的非天然氨基酸分离得到 6 个新型 angucycline 类化合物 jadomycins Abu (60)、Nle (61)、Hse (62)、K (63)、Orn (64) 和 Daba (65), 其中 60、61 和 64 对 MCF-7 ( $\text{IC}_{50}$  分别为 2.7、8.3 和 3  $\mu\text{mol/L}$ )、HCT-116 ( $\text{IC}_{50}$

分别为 8.5、14.5 和 9.2  $\mu\text{mol/L}$ ) 以及人微血管内皮细胞 HMEC ( $\text{IC}_{50}$  分别为 4.5、5.4 和 10.2  $\mu\text{mol/L}$ ) 均具有较好的抑制作用<sup>[28]</sup>。Forget 等采用类似的策略, 通过在培养基中添加关键前体 *N* $\epsilon$ -三氟乙酰-L-赖氨酸, 从委内瑞拉链霉菌 ISP5230 中首次分离得到 3 个含有酰胺和呋喃环的新型 angucycline 类化合物 (66–68), 它们对耐万古霉素肠球菌和 MRSA 具有一定的活性<sup>[29]</sup>。Tata 等通过在链霉菌 PAL114 的  $\text{M}_2$  合成培养基中添加前体 L-色氨酸, 从中分离得到 2 个含有 L-色氨酸和糖苷衍生物发色团的蓝紫色化合物 mzabimycins A (69) 和 B (70), 它们对藤黄微球菌 ATCC 9314 和单核细胞增生性李斯特氏菌 ATCC 13932 具有一定活性<sup>[30]</sup> (图 3)。

## 2 基于基因改造发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物

基因改造主要是对微生物中的基因进行包括异源表达、敲除和过表达<sup>[31]</sup>或者核糖体工程等操作<sup>[32]</sup>, 常用来研究微生物天然产物的生物合成以及发掘新天然产物。近年来许多具有新颖结构的 angucycline/angucyclinone 类天然产物通过这种方法被发现。

### 2.1 异源表达

Izawa 等将链霉菌 2238-SVT4 中负责 hatomarubigins 类化合物合成的 25 个基因在变铅青链霉菌 *Streptomyces lividans* TK23 中进行异源表达, 并将编码亚甲基桥形成酶的 *hrbF* 基因进行缺失, 从中分离得到 1 个该家族的新成员 hatomarubigin F (71)<sup>[33]</sup>。Yang 等将小单孢球链霉菌 *Micromonospora rosaria* SCSIO N160 中的 fluostatins 基因簇在天蓝色链霉菌 *Streptomyces coelicolor* YF11 中异源表达, 在添加 3% (W/V) 海盐的条件下产生了 fluostatin L (72) 和 difluostatin A (73), 其中 73 是通过 C-1 和 C-5' 耦合形成的罕见的不对称二聚体, 对肺炎克雷伯菌 ATCC 13883

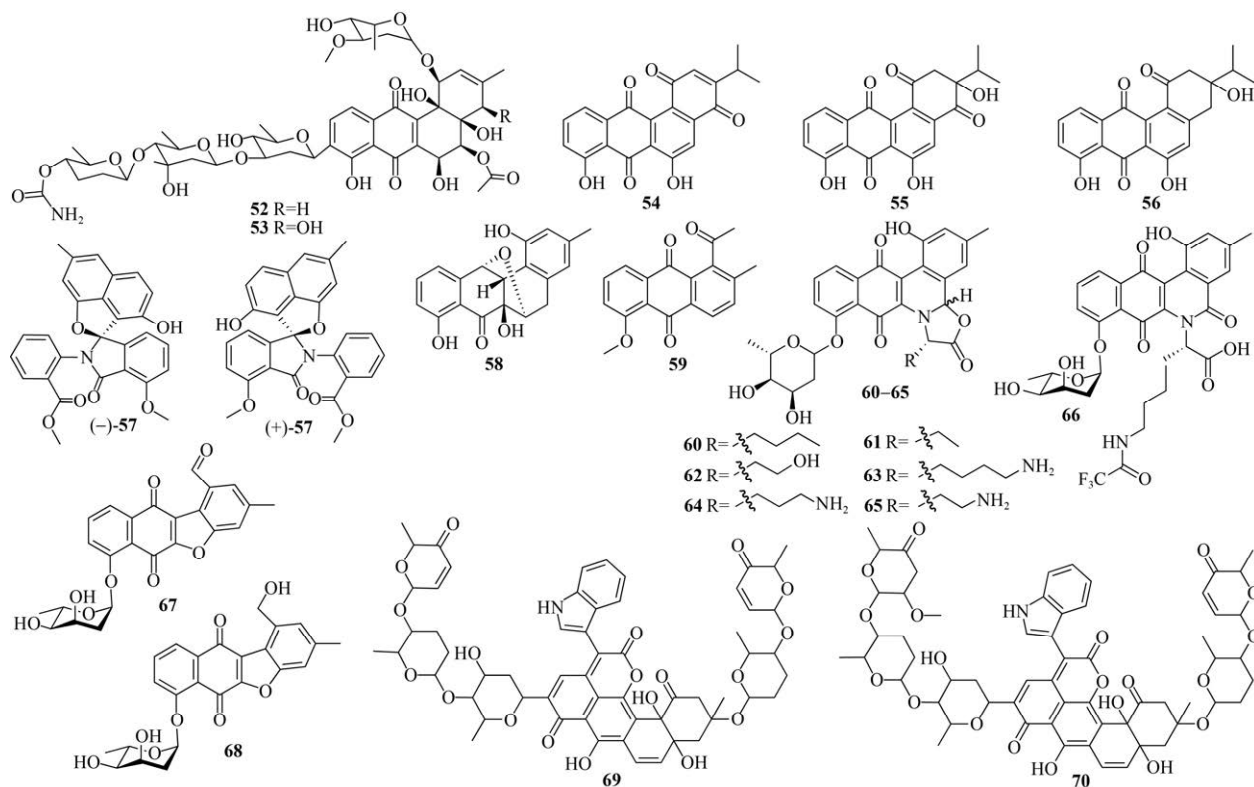


图 3 基于 OSMAC 策略发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (52–70)

Fig. 3 Novel angucyclines/angucyclinones discovered via the OSMAC strategy (52–70).

(MIC 为  $4 \mu\text{g/mL}$ )、嗜水气单胞菌 ATCC 7966 (MIC 为  $4 \mu\text{g/mL}$ ) 和金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 (MIC 为  $8 \mu\text{g/mL}$ ) 表现出较好抗菌活性<sup>[34]</sup>。Schäfer 等首先在天蓝色链霉菌 M1152 中异源表达 simocyclinones 的 BGC, 然后通过在该系统中缺失与 angucyclinone 相关的酮还原基因 *simC7* 分离得到含有四烯结构的 7-oxo-simocyclinone D8 (74), 其对 DNA 解旋酶具有一定的抑制作用<sup>[35]</sup>。Bilyk 等通过在白色链霉菌 *Streptomyces albus* J1074 中异源表达 greco-cyclines 的 BGC, 产生了 3 个具有独特结构的化合物 greco-cyclines A–C (75–77), 它们结构中均包含双糖侧链, 并且在 C-5 位置连有氨基糖和硫醇基团<sup>[36]</sup>。同年 Myronovskyi 等将 landomycins 基因簇中的调控基因 *lanI* 和 *lanK* 在白色链霉菌 J1074 中异源表达, 分离得到 11-hydroxyrabelomycin (78)、

6,11-dihydroxytetrangulol (79)、fridamycins F (80) 和 G (81), 其中 78 和 79 对革兰氏阳性细菌如枯草芽孢杆菌 DSM 1092 和藤黄微球菌 DSM 20030 具有较好的活性, MIC 值均在  $1 \mu\text{g/mL}$  左右, 而 81 对金黄色葡萄球菌 Newman (MIC 为  $1 \mu\text{g/mL}$ ) 表现出较强的选择性抑制作用<sup>[37]</sup>。另外, Fidan 等通过在变铅青链霉菌 K4 中异源表达链霉菌 SCC-2136 中的 C-糖基转移酶基因 *schS7* 得到 1 个新的 angucycline 化合物 GG31 (82)<sup>[38]</sup> (图 4)。

## 2.2 基因敲除或过表达

Forget 等通过缺失 jadomycin 脱氧糖生物合成途径中的 4,6-脱水酶基因 *jadT*, 产生了新型 angucycline 类化合物 jadomycin DS (83)<sup>[39]</sup>。Huang 等采用同样方法, 通过缺失小单孢球链藻菌 SCSIO N160 的 fluostatins 基因簇中编码酰胺转移酶的基因 *flsN3*, 分离得到 4 个新型 angucycline 类

化合物 *stealthins* D–G (**84–87**)<sup>[40]</sup>。Fidan 等通过缺失链霉菌 SCC-2136 中的糖基转移酶基因 *schS9*, 发现 1 个新的 *angucycline* 化合物 OZK1 (**88**)<sup>[38]</sup>。

利用过表达途径特异性调控因子来激活沉默基因簇是一种较为常用的策略, Zhou 等为了激活恰塔努加链霉菌 *Streptomyces chattanoogensis* L10 中沉默的 *angucycline* 类 BGC, 通过过表达与 *jadomycin* 基因簇中的正调控因子 *jadR1* 具有高度同源性的途径特异性调控基因 *chal*, 成功获得了 *chattamycins* A (**89**) 和 B (**90**), 其中 **89** 对 MCF-7

(IC<sub>50</sub> 为 6.46 μmol/L)、**90** 对 MCF-7 (IC<sub>50</sub> 为 1.08 μmol/L) 和 HepG2 (IC<sub>50</sub> 为 5.93 μmol/L) 表现出较好的抑制活性<sup>[41]</sup> (图 4)。

### 2.3 核糖体工程

核糖体工程是一种简单易行的激活沉默 BGCs 的方法。为了研究恰塔努加链霉菌 L10 中其他沉默基因簇的代谢产物, Li 等使用核糖体工程技术对编码核糖体蛋白 S12 的 *rpsL* 或编码 RNA 聚合酶 β 亚甲基的 *rpoB* 的高度保守区域进行定点突变, 产生了 10 个突变株<sup>[42]</sup>。其中突变菌株

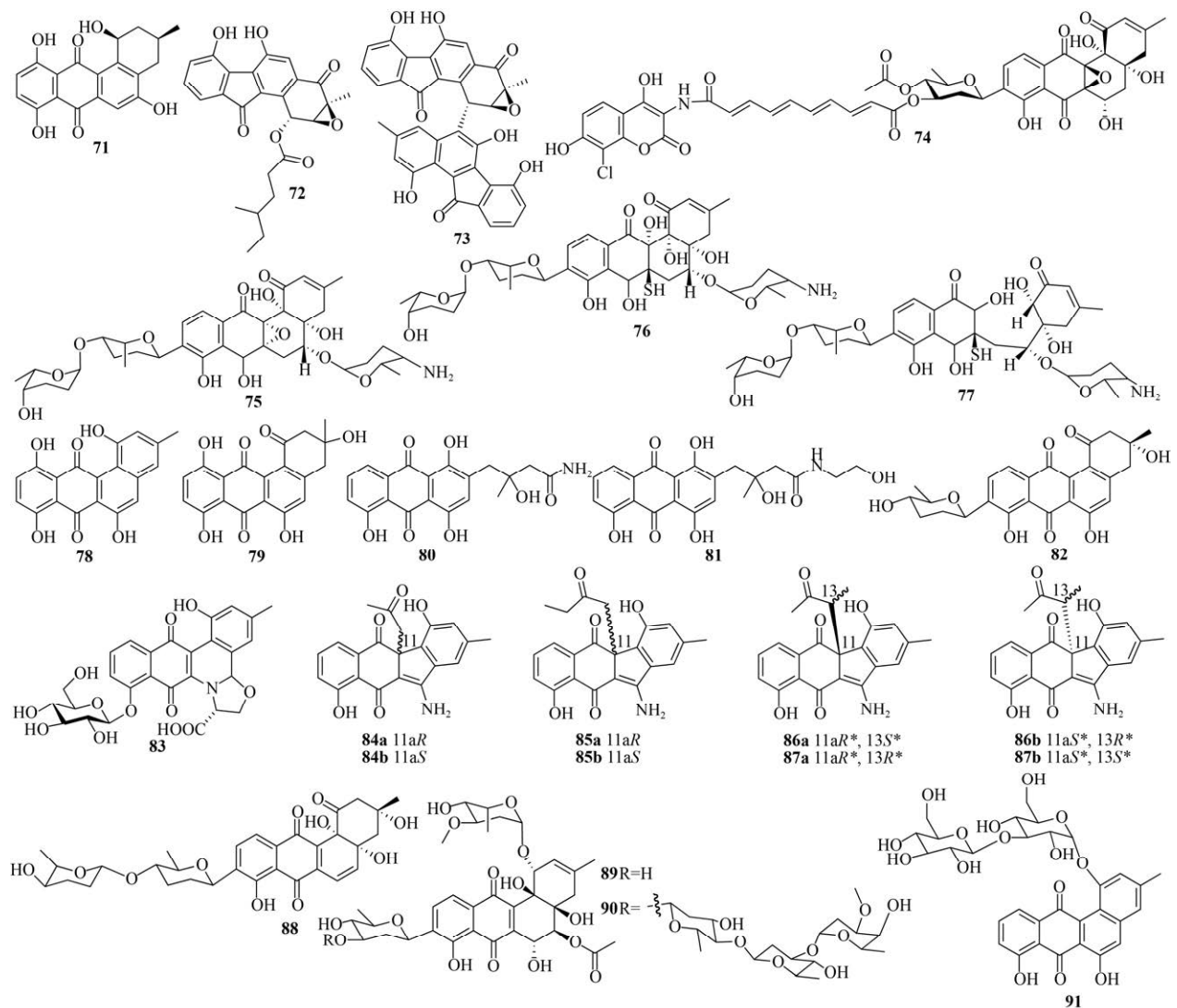


图 4 基于基因改造发现的新型 *angucycline/angucyclinone* 类化合物 (71–91)

Fig. 4 Novel *angucyclines/angucyclinones* discovered via the genetic modification strategy (71–91).



L10/RpoB (H437Y) 可以在平板上沉积色素, 基于此, Li 等对该突变株进行研究并从中分离得到 anthrachamycin (**91**), 但其基本没有抗菌和抗肿瘤活性; 在 ABTS 自由基清除实验和 FRAP 铁离子还原实验中, 其抗氧化活性分别为 67.28 和 24.31 mg VCE/g LP<sup>[42]</sup> (图 4)。

### 3 基于基因组挖掘发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物

随着高通量测序技术的快速发展, 基因组挖掘在开发微生物天然产物的研究中被广为应用, 并成为一种发现特定类型新化合物的高效策略<sup>[43-44]</sup>。Jin 等以 II 型聚酮合成酶  $KS_{\alpha}$  和  $KS_{\beta}$  的保守序列为分子探针从链霉菌 PKU-MA00045 中分离得到具有独特的 6-5-6-6 环骨架的 fluostatins M–Q (**92–96**)<sup>[45]</sup>。由于许多天然产物的糖基部分通常参与细胞靶点的相互作用和分子识别, Malmierca 等以 2 类 6-脱氧糖合成基因为探针筛选从切叶蚂蚁表皮分离的 70 株链霉菌, 最终成功地从链霉菌 CS057 中分离得到 2 个新型 angucycline 类化合物 warkmycins CS1 (**97**) 和 CS2 (**98**)<sup>[46]</sup>。Yang 等通过靶向 II 型聚酮合成酶找到链霉菌 PKU-MA00218<sup>[47]</sup>, 然后 Liu 等从中分离得到 1 个具有苯胺结构的新颖 angucyclinone 类化合物 (**99**)<sup>[48]</sup>。Cruz 等采用 PCR 方法以放线异壁酸菌 *Actinoallomurus* 的保守

序列为分子探针筛选收集的放线异壁酸菌, 最终从放线异壁酸菌 ID145698 中分离得到 4 个具有不同寻常内酯环和氯原子取代的新型 angucyclinone 类化合物 allocyclinones A–D (**100–103**), 其中 **101–103** 对金黄色葡萄球菌 ATCC 6538P (MIC 分别为 2、1 和 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ), **100**、**102** 和 **103** 对酿脓链球菌 L49 (MIC 分别为 4、2 和 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ), **102** 和 **103** 对粪肠球菌 L560 (MIC 分别为 1  $\mu\text{g/mL}$  和 0.5  $\mu\text{g/mL}$ ) 以及 **103** 对屎肠球菌 L569 (MIC 为 4  $\mu\text{g/mL}$ ) 具有较强抗菌活性, 随着氯原子取代的数量增加, 抗菌活性也随之增加<sup>[49]</sup>。由上可知, 通过靶向高度保守的 angucycline/angucyclinone 类 BGCs 和一些编码特定修饰酶的基因, 可以高效地获得含有预期结构修饰的这类化合物 (图 5)。

### 4 基于活性导向发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物

活性导向筛选是发现新型天然产物的一种非常经典的方法, 目前仍被广泛应用于 angucycline/angucyclinone 类天然产物的开发中。Ren 等基于对人结肠癌细胞 SW620 的抑制活性筛选, 从链霉菌 N05WA963 中分离得到 N05WA963s A (**104**)、B (**105**) 和 D (**106**), 这 3 个化合物对 SW620 ( $IC_{50}$  分别为 4.4、7.1 和 1.0  $\mu\text{mol/L}$ )、食管癌细胞 YES-4 ( $IC_{50}$  分别为 7.9、8.5 和 4.0  $\mu\text{mol/L}$ ) 和人脑神经

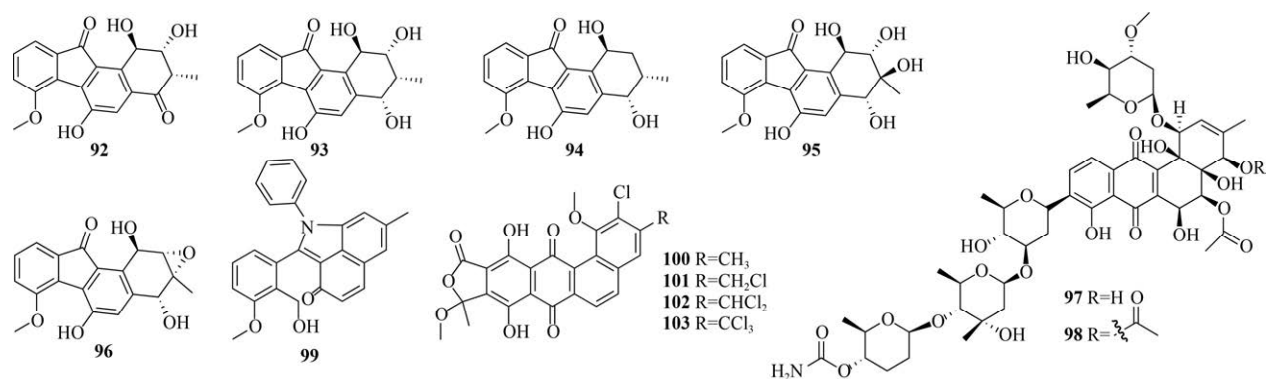


图 5 基于基因组挖掘发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (**92–103**)

Fig. 5 Novel angucyclines/angucyclinones discovered via the genome mining strategy (**92–103**).

胶质瘤细胞 U251SP ( $IC_{50}$  分别为 5.6、10.3 和 3.3  $\mu\text{mol/L}$ ), **106** 对人白血病细胞 K-562 ( $IC_{50}$  为 1.5  $\mu\text{mol/L}$ ), **104** 和 **106** 对 MDA-MB-231 ( $IC_{50}$  分别为 9.8 和 2.8  $\mu\text{mol/L}$ ) 和人脑神经胶质瘤细胞 T-98 ( $IC_{50}$  分别为 5.3 和 3.1  $\mu\text{mol/L}$ ) 具有较好抗肿瘤活性<sup>[50]</sup>。基于对寄生水霉 *Saprolegnia parasitica* 的抑制活性筛选, Nakagawa 等从链霉菌 TK08046 分离得到 5 个新型 angucycline 化合物 saprolmycins A-E (**107–111**), 它们对寄生水霉 (MIC 分别为 0.003 9、8、1、1 和 0.007 8  $\mu\text{g/mL}$ ) 均具有较好的活性, 其中 **111** 对枯草芽孢杆菌的 MIC 为 7.8  $\mu\text{g/mL}$ , 对水蚤 *Daphnia pulex* 的半数致死剂量 (Median lethal dose,  $LD_{50}$ ) 为 4.5  $\mu\text{g/mL}$ , 也有较好抑制作用<sup>[51]</sup>。WalK (组氨酸激酶)/WalR (反应调节器) 双组分信号传导系统是一类新型革兰氏阳性菌的抗菌药物靶点, Igarashi 等通过筛选靶向组氨酸激酶 WalK 的抑制剂, 从链霉菌 MK844-mF10 中分离到 waldiomycin (**112**), 它对金黄色葡萄球菌 Smith 和枯草芽孢杆菌具有较好的抑制作用, MIC 值均为 8  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[52]</sup>。随后的研究也证明 **112** 通过抑制 WalK 的活性来降低 *walR* 调控基因的表达, 从而影响细胞壁代谢和细胞分裂<sup>[53]</sup>。Mullowney 等基于对人卵巢癌细胞 NCI-60 SKOV3 的体外活性筛选, 从源自越南东海猫坝半岛沉积物的小单孢菌中分离到 lagumycin B (**113**), 其对小鼠卵巢表面上皮细胞 MOSE 以及小鼠输卵管上皮细胞 MOE 的半数致死浓度 (Median lethal concentration,  $LC_{50}$ ) 分别为 9.80  $\mu\text{mol/L}$  和 10.8  $\mu\text{mol/L}$ , 表现出较好的细胞毒性<sup>[54]</sup>。为了评价流苏羽叶楸茎皮对 11 种病原菌的抑菌潜力, Awang 等基于对 MRSA 的活性筛选, 从流苏羽叶楸茎皮的分离菌中得到 1 个新型 angucycline 化合物 C1 (**114**), 它对表皮葡萄球菌 ATCC 12228 (MIC 为 3.13  $\text{mg/mL}$ )、MRSA (MIC 为 6.25  $\text{mg/mL}$ ) 和金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 (MIC 为 6.25  $\text{mg/mL}$ ) 均具有较好的抗菌作用<sup>[55]</sup>。Bao 等基于对金黄色

葡萄球菌的活性筛选, 从链霉菌 XZHG99T 中分离得到 1 个新的 angucycline 类化合物 grincamycin M (**115**), 其对 A549 ( $IC_{50}$  为 3.10  $\mu\text{mol/L}$ )、人肺癌细胞 H157 ( $IC_{50}$  为 2.82  $\mu\text{mol/L}$ )、MCF-7 ( $IC_{50}$  为 2.81  $\mu\text{mol/L}$ )、MDA-MB-231 ( $IC_{50}$  为 2.14  $\mu\text{mol/L}$ ) 和 HepG2 ( $IC_{50}$  为 9.12  $\mu\text{mol/L}$ ) 均表现出较好的细胞毒性<sup>[56]</sup>。Voitsekhovskaia 等基于对枯草芽孢杆菌的抗菌活性筛选, 从源自贝加尔湖特有软体动物的链霉菌 IB201691-2A 中分离得到 3 个新型 angucycline 类化合物 baikalomycins A-C (**116–118**), 其中 **116** 的糖基为  $\beta$ -D-amicetose 并且在 C-6a 和 C-12a 位有 2 个额外的羟基, 而 **117** 和 **118** 分别有  $\alpha$ -L-amicetose 和  $\alpha$ -L-aculose 为第二糖基<sup>[57]</sup>。生物活性研究表明 **116** 和 **117** 对 A549 和 MCF-7 有一定的活性, 而 **118** 对人肝癌细胞 Huh7.5 ( $IC_{50}$  为 7.62  $\mu\text{mol/L}$ ) 和 SW620 ( $IC_{50}$  为 3.87  $\mu\text{mol/L}$ ) 表现出良好的活性<sup>[57]</sup>。Chang 等结合 HPLC-UV 图谱和对人慢性髓系白血病细胞 K562 的细胞毒性, 从海洋沉积源链霉菌 HDN15129 中发现了 6 个化合物 monacyclones G-K (**119–123**) 和 *ent*-gephyromycin A (**124**), 其中 **119** 具有独特的以黄酮为核心与氨基脱氧糖相连的骨架结构, **120–122** 是带有 S-甲基的罕见 angucycline 类天然产物; **119** 对急性粒细胞白血病细胞 HL-60 ( $IC_{50}$  为 3.5  $\mu\text{mol/L}$ )、K562 ( $IC_{50}$  为 7.1  $\mu\text{mol/L}$ ) 和人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y ( $IC_{50}$  为 4.3  $\mu\text{mol/L}$ ) 等多种人类肿瘤细胞均表现出较强的细胞毒性<sup>[58]</sup> (图 6)。

## 5 从特殊环境来源放线菌中发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物

### 5.1 海洋来源

深海具有高压、低温和寡营养等多种极端环境, 因此来自深海的链霉菌被认为是开发新型天然产物的重要微生物资源<sup>[59]</sup>。近年来从海底沉积物、海绵和红树林等样品中分离得到的海洋链霉菌吸引了研究者的极大关注, 从中发现了很多新

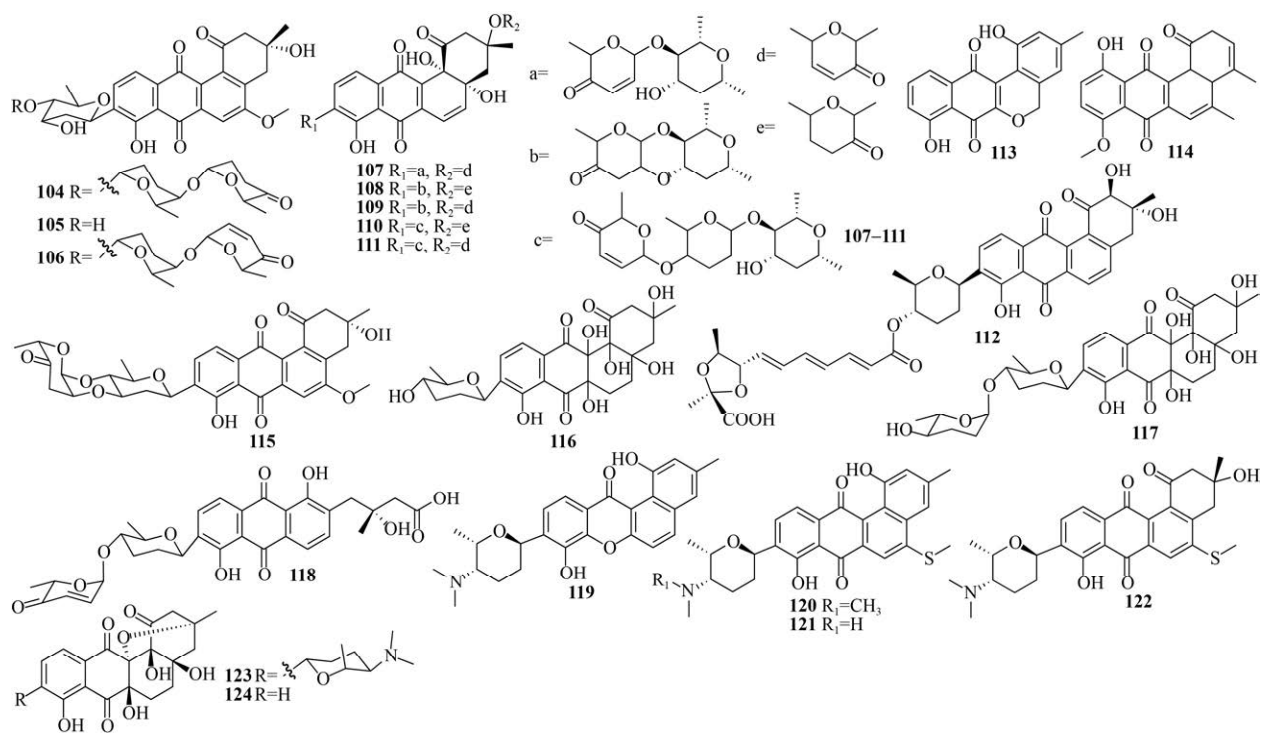


图 6 基于活性导向发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (104–124)

Fig. 6 Novel angucyclines/angucyclinones discovered via the bioactivity-guided isolation strategy (104–124).

型 angucycline/angucyclinone 类化合物<sup>[60]</sup>。Huang 等从南海沉积物来源的卢西塔链霉菌 SCSIO LR32 中分离得到 4 个新型 angucycline 化合物 grincamycins B–D (125–127) 和 F (128), 其中 125 和 127 对小鼠黑色素瘤细胞 B16 (IC<sub>50</sub> 分别为 2.1 和 5.4 μmol/L) 和 HepG2 (IC<sub>50</sub> 分别为 8.5 和 9.7 μmol/L)、125 对 HeLa (IC<sub>50</sub> 为 6.4 μmol/L) 以及 127 对 MCF-7 (IC<sub>50</sub> 为 6.1 μmol/L) 具有较好活性<sup>[61]</sup>。Lai 等同样从链霉菌 SCSIO LR32 中分离鉴定出 3 个新型 angucycline 类化合物 grincamycins I–K (129–131), 其中 130 对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 (IC<sub>50</sub> 为 2.63 μmol/L)、MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 为 4.68 μmol/L)、NCI-H460 (IC<sub>50</sub> 为 5.40 μmol/L)、HCT-116 (IC<sub>50</sub> 为 2.63 μmol/L) 和 HepG2 (IC<sub>50</sub> 为 4.80 μmol/L) 均显示出较强的抗肿瘤活性, 但其对人类正常乳腺上皮细胞 MCF10A (IC<sub>50</sub> 为 2.43 μmol/L) 也表现出较强的细胞毒性<sup>[62]</sup>。Xie 等从深海沉积物来源的灰色链霉菌 *Streptomyces*

*griseus* M268 中分离得到 kiamycin (132), 其对 HL-60、A549 和人肝癌细胞 BEL-7402 具有一定抑制作用<sup>[63]</sup>。Song 等从深海沉积物来源的链霉菌 SCSIO 11594 中分离鉴定出 2 个新型 angucycline 类化合物 marangucyclines A (133) 和 B (134), 其中 134 对 A549 (IC<sub>50</sub> 为 0.45 μmol/L)、人鼻咽癌细胞 CNE2 (IC<sub>50</sub> 为 0.56 μmol/L)、HepG2 (IC<sub>50</sub> 为 0.24 μmol/L) 和 MCF-7 (IC<sub>50</sub> 为 0.43 μmol/L) 等抗肿瘤活性优于阳性对照顺铂, 其对正常肝细胞 HL-7702 的 IC<sub>50</sub> 值为 3.67 μmol/L<sup>[64]</sup>。Hu 等从中国台湾海峡沉积物来源的海洋链霉菌 A6H 中分离得到 vineolactone A (135) 和 vineomycinone B<sub>2</sub> 苄酯 (136), 但这 2 个化合物未表现出明显的抗菌和抗肿瘤活性<sup>[65]</sup>。Xie 等从海洋沉积物来源的灰色链霉菌 M268 中分离得到具有独特醚桥结构的新型 angucyclinone 化合物 grisemycin (137), 其对 HL-60 具有一定抗肿瘤活性<sup>[66]</sup>。Guo 等从灰色链霉菌 M268 中分离得到具有桥醚结构的

kiamycins B (**138**) 和 C (**139**) 以及结构相关衍生物 (**140**), 其中 **140** 对人肺腺癌细胞 NCI-H1975 的  $IC_{50}$  值为  $17.8 \mu\text{g/mL}$ <sup>[67]</sup>。Zhou 等从海洋沉积物来源的链霉菌 HN-A124 分离得到罕见的 C-3 和 C-12a 形成环氧结构的 gephyamycin (**141**) 以及具有乙酰半胱氨酸基团的 cysrabelomycin (**142**), 其中 **142** 对人卵巢细胞 A2780 ( $IC_{50}$  为  $10.23 \mu\text{mol/L}$ ) 具有较好活性, 对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌具有一定抑制作用<sup>[68]</sup>。Yixizhuoma 等从海洋链霉菌 IFM 11490 中分离到 6 个新型 angucycline 类化合物 elmenols C-H (**143–148**), 其中 **147** 和 **148** 与凋亡相关的肿瘤坏死因子配体联合使用对人胃癌细胞显示出较好活性<sup>[69]</sup>。Ma 等从深海沉积物来源的链霉菌 PKU-MA01297 分离得到 2 个首次报道的具有 1-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基的 angucycline 类化合物 (**149**) 和 (**150**), 它们具有一定抗菌活性<sup>[70]</sup>。Zhang 等从海洋沉积物来源草生链霉菌 KCB-132 中分离得到化合物 ( $\pm$ )-pratenone A (**151**) 和 furamycins I–III (**152–154**), 其中 **151** 对金黄色葡萄球菌 CMCC 26003 (MIC 为  $8 \mu\text{g/mL}$ ) 表现出较好抑制作用, **154** 对人类乳腺癌细胞 PANC-1 和 HepG2 表现出一定活性<sup>[71]</sup>。Gui 等从红树林沉积物来源的淀粉酶链霉菌 *Streptomyces diastaticus* SCSIO GJ056 中分离到 9 个新型 angucycline 类化合物 urdamycins N1–N9 (**155–163**), **161** 和 **162** 是首次发现的天然存在的 (5*R*,6*R*)-angucycline 糖苷类化合物, 分别为 **159** 和 **163** 的非对映体<sup>[72]</sup>。Yang 等同样从深海来源卢西塔链霉菌 OUCT16-27 分离到 1 个化合物 grincamycin L1 (**164**), 其对粪肠球菌 CCARM 5172 (MIC 为  $6.25 \mu\text{g/mL}$ )、尿肠球菌 CCARM 5203 (MIC 为  $3.12 \mu\text{g/mL}$ ) 和金黄色葡萄球菌 CCARM 3090 (MIC 为  $6.25 \mu\text{g/mL}$ ) 均有较好的生长抑制作用<sup>[59]</sup>。

海洋中包含多种复杂的生态系统, 如潮间带生态系统与海底生态系统有很大不同, 定期的潮汐浸泡会导致更多的有机碳以及氧气和硫酸盐溶

解到潮间带沉积物中, 这有利于微生物的生存, 尤其是好氧的链霉菌<sup>[73]</sup>。Peng 等从威海小石岛潮间带沉积物中分离到链霉菌 OC1610.4, 并从中分离了 2 个新型 angucycline 类化合物 landomycin N (**165**) 和 vineomycin D (**166**), 其中 **166** 具有重排形成的线性三环母核结构, 并且在母核侧链包含 2 种糖基<sup>[73]</sup>。此外, 海绵中含有的包括链霉菌在内的多种微生物, 是良好的新型天然产物的来源<sup>[74]</sup>。Vicente 等从源自加勒比地区海绵的链霉菌 M7\_15 中分离到 6 个新的 C-氨基糖的化合物 monacyclinones A–F (**167–172**), 其中 **172** 是通过 2 个独特的环氧环连接到 angucyclinone 的部分, 再由 1 个角氧键和 1 个附加的氨基脱氧糖相连<sup>[75]</sup>。相对于同时分离到的其他同系物, **172** 对横纹肌肉瘤癌细胞 SJCRH30 的半数有效浓度 (Median effective concentration,  $EC_{50}$ ) 为  $0.73 \mu\text{mol/L}$ , 表现出最强的抑制活性, 这表明额外的氨基脱氧糖亚基部分可能对这类分子的抗肿瘤生物活性很重要<sup>[75]</sup>。上述研究揭示了源自各种极端环境或未开发生态系统中的海洋链霉菌在新型 angucycline/angucyclinone 类化合物发现中的巨大潜能 (图 7)。

## 5.2 其他特殊来源或稀有放线菌来源

Guo 等从健康稻蝗肠道中的细菌 HCa1 中分离得到 (2*R*,3*R*)-2-hydroxy-8-*O*-methyl tetrangomycin (**173**) 和 (2*R*,3*R*)-2-hydroxy-5-*O*-methyltetrangomycin (**174**), 其中 **174** 对人胃癌细胞 SGC-7901 具有一定活性<sup>[76]</sup>。Shaaban 等从阿巴拉契亚山脉洞穴附近样本来源的链霉菌 KY40-1 分离得到 saquayamycins G–K (**175–179**), 其中 **176** 和 **177** 结构中具有不同寻常的氨基糖, 这是首次从 angucycline 类天然产物中发现这类结构<sup>[77]</sup>。**175–179** 对人前列腺癌细胞 PC3 ( $IC_{50}$  分别为 0.55、0.79、0.91、0.18 和 0.15  $\mu\text{mol/L}$ ) 和非小细胞肺癌 H460 ( $IC_{50}$  分别为 6.72、3.30、7.94、5.69 和 7.28  $\mu\text{mol/L}$ ) 表现出较好的抗肿瘤活性<sup>[77]</sup>。Boonlarppradab 等从稀有放线菌糖多孢菌 *Saccharoploypora* sp. BCC 21906

分离得到 3 个新型 angucyclinone 类化合物 saccharosporones A–C (**180–182**), 其中 **180** 对非恶性肿瘤细胞 Vero ( $IC_{50}$  为  $9.1 \mu\text{mol/L}$ ), **181** 和 **182** 对人口腔表皮样癌细胞 VB ( $IC_{50}$  分别为  $9.1 \mu\text{mol/L}$  和  $4.9 \mu\text{mol/L}$ )、MCF-7 ( $IC_{50}$  分别为  $3.4 \mu\text{mol/L}$  和  $3.6 \mu\text{mol/L}$ ) 和人视网膜母细胞瘤细胞 NCI-H187

( $IC_{50}$  分别为  $7.7 \mu\text{mol/L}$  和  $4.5 \mu\text{mol/L}$ ) 表现出较好抗肿瘤活性<sup>[78]</sup>。Rabia-Boukhalfa 等从撒哈拉沙漠盐土样品来源的卤代耐受性诺卡氏菌 HR-4 中分离得到 (-)-7-deoxy-8-*O*-methyltetrangomycin (**183**), 其对金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 和 ATCC 43300 具有一定抑菌活性<sup>[79]</sup> (图 8)。

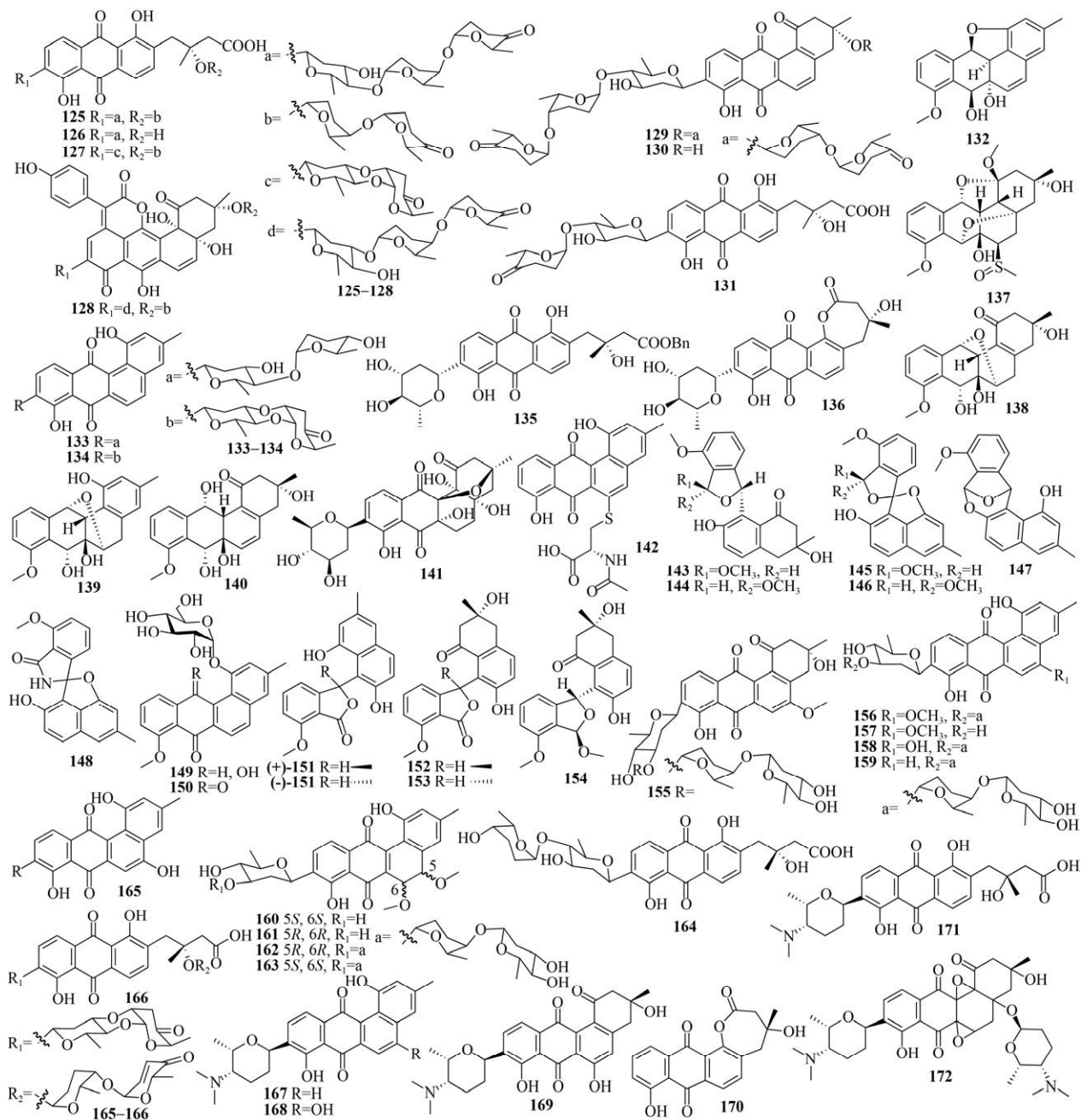


图 7 从特殊环境来源放线菌发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (125–172)

Fig. 7 Novel angucyclines/angucyclinones discovered from actinomycetes from underexplored environments (125–172).

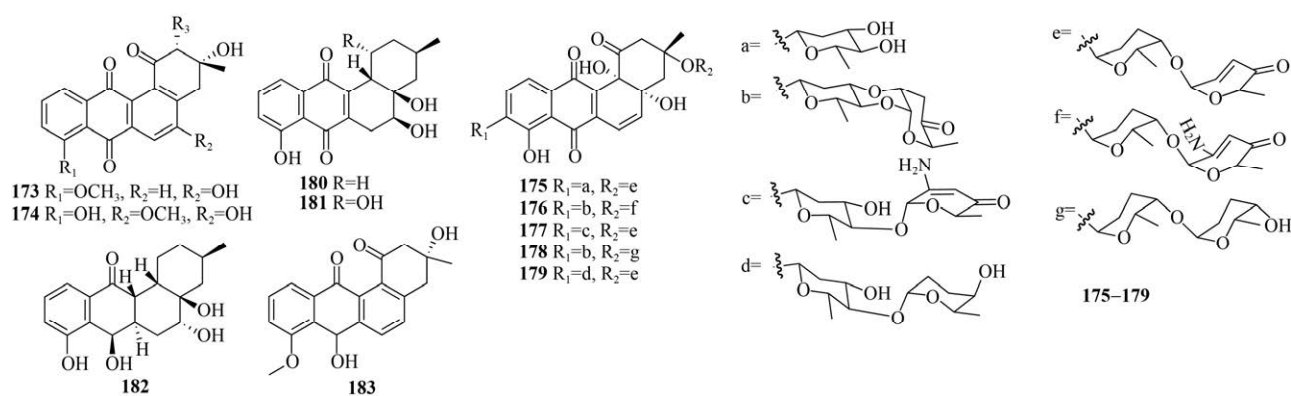


图 8 从特殊环境来源放线菌或稀有放线菌中发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (173-183)

Fig. 8 Novel angucyclines/angucyclinones discovered from actinomycetes from underexplored environments or rare actinomycetes (173-183).

## 6 利用化学方法发现新型 angucycline/angucyclinone 类化合物

Chen 等通过 LC-DAD-MS 分析方法从链霉菌 LS1924 分离得到 1 个环扩张的 angucyclinone 类化合物 LS1924A (184), 其对 HepG2 和 A549 具有一定活性<sup>[80]</sup>。Jiang 等通过对链霉菌 SS13I 进行化学研究从中分离得到 2 个桥接类型的 angucyclinone 类化合物 gephyromycins B (185) 和 C (186), 其中 186 对 PC3 具有较强细胞毒性,  $\text{IC}_{50}$  值为  $1.38 \mu\text{mol/L}$ <sup>[81]</sup>。Kalyon 等使用高效液相二极管阵列方法筛选从马来西亚分离的 100 株放线菌, 最终从链霉菌 Acta 3034 中分离得到 langkocyclines A1-A3 (187-189)、B1 (190) 和 B2 (191), 其中 188 和 189 对枯草芽孢杆菌 ( $\text{IC}_{50}$  分别为  $4.07 \mu\text{mol/L}$  和  $2.17 \mu\text{mol/L}$ ), 189 对 HepG2 ( $\text{IC}_{50}$  为  $2.5-5.0 \mu\text{mol/L}$ ) 和小鼠胚胎细胞 NIH 3T3 ( $\text{IC}_{50}$  为  $2.5-5.0 \mu\text{mol/L}$ ) 表现出较好活性<sup>[82]</sup>。Wang 等通过 HPLC-DAD 方法筛选其实验室的放线菌, 最终从链霉菌 KIB-M10 分离得到 cangumycins A-F (192-197), 其中 193 和 196 对抗 CD3/抗 CD28 抗体激活的人类 T 细胞表现出较强活性,  $\text{IC}_{50}$  值分别为  $8.1 \mu\text{mol/L}$  和  $2.7 \mu\text{mol/L}$ <sup>[83]</sup>。Dan 等在基因组分析和全局天然产物分子网络方法指导下从链霉菌 OA293 中

分离出 urdamycin V (198), 其活性较弱<sup>[84]</sup>。Kim 等基于分子网络的 MS/MS 方法从栀子花根部分离的链霉菌 GJA1 中得到 2 个新的桥接 C-5 和 C-7 的 angucyclinone 类化合物 gardenomycins A (199) 和 B (200)<sup>[85]</sup> (图 9)。

## 7 总结与展望

随着大规模放线菌菌种库的建立<sup>[86]</sup>、微生物基因组测序及生物信息学技术<sup>[87-88]</sup>的广泛应用, 以及各种高通量筛选<sup>[89]</sup>、基因组挖掘<sup>[90-91]</sup>和新的化合物鉴定技术<sup>[92]</sup>的快速发展, 当前微生物天然产物的发现策略与传统的方法相比更为特异和高效<sup>[93]</sup>。由于海洋来源的放线菌与土壤中放线菌的生存环境存在较大差异, 是近年来发现新型化合物的重要来源。Angucycline/angucyclinone 类天然产物最早于 20 世纪 60 年代被发现, 因其多样的化学结构和新颖的生物活性一直是生物合成和有机合成领域的热点分子。近年来随着新菌种资源的获得和新发现策略的不断开发, 不断有结构新颖、活性较好的新分子涌现, 丰富着 angucycline/angucyclinone 类天然产物的结构多样性。本文总结了近 10 年来 (2010-2020 年) 通过不同策略发现的 angucycline/angucyclinone 类天然产物。同

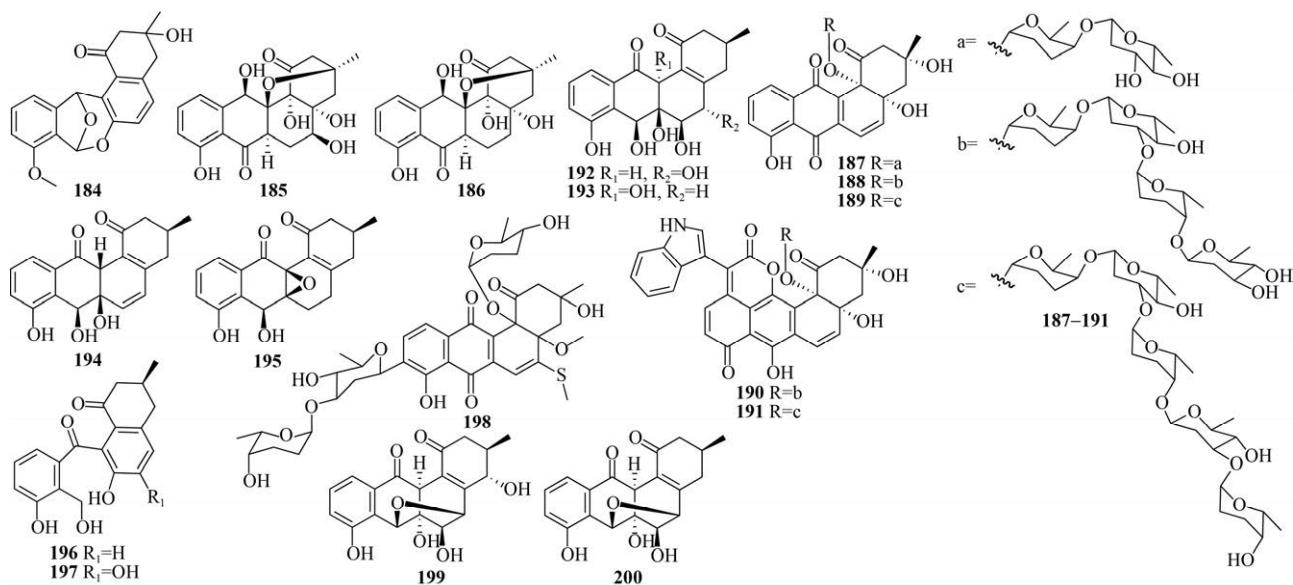


图 9 利用化学方法发现的新型 angucycline/angucyclinone 类化合物 (184–200)

Fig. 9 Novel angucyclines/angucyclinones discovered using chemical methods (184–200).

时,通过对它们的生物活性研究可以发现,修饰基团的位置和数量都会对活性产生较大影响。利用组合生物合成方法对糖基转移酶<sup>[38]</sup>、FAD 依赖型单氧合酶和开环氧化酶<sup>[94]</sup>、碳-碳键环裂解氧合酶<sup>[95]</sup>以及酰胺氧化酶<sup>[40]</sup>等后修饰酶进行敲除、过表达、异源表达、点突变等操作,可以开发出具有新结构、新活性的 angucycline/angucyclinone 类天然产物。另外,通过对关键合成酶或修饰酶的作用机理的研究,以及 angucycline/angucyclinone 类化合物的构效关系研究等,结合基因编辑、药物设计、靶点预测等技术,将有助于通过合成生物学的方法发现具有独特分子结构或具有新作用机制的化合物,促进 angucycline/angucyclinone 类天然产物的临床开发。本文中提到的发现新化合物的方法也适用于其他类型的微生物天然产物的发现,为发现具有不同结构特征的新天然产物提供了很好的借鉴。

## REFERENCES

[1] Rohr J, Thiericke R. Angucycline group antibiotics. *Nat Prod Rep*, 1992, 9(2): 103-137.  
[2] Kharel MK, Pahari P, Shepherd MD, et al.

Angucyclines: biosynthesis, mode-of-action, new natural products, and synthesis. *Nat Prod Rep*, 2012, 29(2): 264-325.

- [3] 汪月, 韩宁宁, 孙承航. Angucycline/Angucyclinone 类抗生素的研究进展. *国外医药(抗生素分册)*, 2007, 28(3): 97-102.  
Wang Y, Han NN, Sun CH. Advance in new angucycline/angucyclinone antibiotic discoveries. *World Notes Antibiot*, 2007, 28(3): 97-102 (in Chinese).  
[4] Henkel T, Rohr J, Beale JM, et al. Landomycins, new angucycline antibiotics from *Streptomyces* sp. I. Structural studies on landomycins A–D. *J Antibiot (Tokyo)*, 1990, 43(5): 492-503.  
[5] Li XH, Woodward J, Hourani A, et al. Synthesis of the 2-deoxy trisaccharide glycal of antitumor antibiotics landomycins A and E. *Carbohydr Res*, 2016, 430: 54-58.  
[6] Rohr J, Beale JM, Floss HG. Urdamycins, new angucycline antibiotics from *Streptomyces fradiae*. IV. Biosynthetic studies of urdamycins A–D. *J Antibiot (Tokyo)*, 1989, 42(7): 1151-1157.  
[7] Hayakawa Y, Ha SC, Kim YJ, et al. Studies on the isotetracenone antibiotics. IV. Hatomarubigins A, B, C and D, new isotetracenone antibiotics effective

- against multidrug-resistant tumor cells. *J Antibiot* (Tokyo), 1991, 44(11): 1179-1186.
- [8] Balitz DM, O'Herron FA, Bush J, et al. Antitumor agents from *Streptomyces anandii*: gilvocarcins V, M and E. *J Antibiot* (Tokyo), 1981, 34(12): 1544-1555.
- [9] Omura S, Nakagawa A, Yamada H, et al. Structures and biological properties of kinamycin A, B, C, and D. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 1973, 21(5): 931-940.
- [10] Bentley SD, Chater KF, Cerdeño-Tárraga AM, et al. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002, 417(6885): 141-147.
- [11] Jakubiec-Krzesniak K, Rajnisz-Mateusiak A, Guspiel A, et al. Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties. *Pol J Microbiol*, 2018, 67(3): 259-272.
- [12] Reen FJ, Romano S, Dobson ADW, et al. The sound of silence: activating silent biosynthetic gene clusters in marine microorganisms. *Mar Drugs*, 2015, 13(8): 4754-4783.
- [13] 杨建新. 苯并蒽醌类抗生素的研究进展. 国外医药(抗生素分册), 1988, 9(2): 98-109.
- [14] Krohn K, Rohr J. Angucyclines: total syntheses, new structures, and biosynthetic studies of an emerging new class of antibiotics. *Top Curr Chem*, 1997(188): 127-195.
- [15] Bode HB, Bethe B, Höfs R, et al. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *Chem Bio Chem*, 2002, 3(7): 619-627.
- [16] Liu MM, Grkovic T, Liu XT, et al. A systems approach using OSMAC, Log P and NMR fingerprinting: an approach to novelty. *Synth Syst Biotechnol*, 2017, 2(4): 276-286.
- [17] Guo ZK, Liu SB, Jiao RH, et al. Angucyclines from an insect-derived actinobacterium *Amycolatopsis* sp. HCa1 and their cytotoxic activity. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(24): 7490-7493.
- [18] Helaly SE, Goodfellow M, Zinecker H, et al. Warkmycin, a novel angucycline antibiotic produced by *Streptomyces* sp. Acta 2930. *J Antibiot* (Tokyo), 2013, 66(11): 669-674.
- [19] Abdelmohsen U, Cheng C, Viegelmann C, et al. Dereplication strategies for targeted isolation of new antitrypanosomal actinosporins A and B from a marine sponge associated-*actinokineospora* sp. EG49. *Mar Drugs*, 2014, 12(3): 1220-1244.
- [20] Ma M, Rateb ME, Teng QH, et al. Angucyclines and angucyclinones from *Streptomyces* sp. CB01913 featuring C-ring cleavage and expansion. *J Nat Prod*, 2015, 78(10): 2471-2480.
- [21] Qu XY, Ren JW, Peng AH, et al. Cytotoxic, anti-migration, and anti-invasion activities on breast cancer cells of angucycline glycosides isolated from a marine-derived *Streptomyces* sp. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 277.
- [22] Wu CS, Van Der Heul HU, Melnik AV, et al. Lugdunomycin, an angucycline-derived molecule with unprecedented chemical architecture. *Angew Chem*, 2019, 131(9): 2835-2840.
- [23] Bae M, An JS, Hong SH, et al. Donghaecyclinones A-C: new cytotoxic rearranged angucyclinones from a volcanic island-derived marine *Streptomyces* sp. *Mar Drugs*, 2020, 18(2): 121.
- [24] Fang ZJ, Jiang XD, Zhang QB, et al. S-bridged thioether and structure-diversified angucyclinone derivatives from the South China sea-derived *Micromonospora echinospora* SCSIO 04089. *J Nat Prod*, 2020, 83(10): 3122-3130.
- [25] Akhter N, Liu YQ, Auckloo BN, et al. Stress-driven discovery of new angucycline-type antibiotics from a marine *Streptomyces pratensis* NA-ZhouS1. *Mar Drugs*, 2018, 16(9): 331.
- [26] Xu DB, Nepal KK, Chen J, et al. Nocardioisistins A-C: new angucyclines with anti-MRSA activity isolated from a marine sponge-derived *Nocardioisistis* sp. HB-J378. *Synth Syst Biotechnol*, 2018, 3(4): 246-251.
- [27] Guo L, Zhang L, Yang QL, et al. Antibacterial and cytotoxic bridged and ring cleavage angucyclinones from a marine *Streptomyces* sp. *Front Chem*, 2020, 8: 586.
- [28] Fan KQ, Zhang X, Liu HC, et al. Evaluation of the cytotoxic activity of new jadomycin derivatives reveals the potential to improve its selectivity against tumor cells. *J Antibiot* (Tokyo), 2012, 65(9): 449-452.
- [29] Forget SM, Robertson AW, Overy DP, et al. Furan and lactam jadomycin biosynthetic congeners isolated from *Streptomyces venezuelae* ISP5230 cultured with  $N_\epsilon$ -trifluoroacetyl-L-lysine. *J Nat Prod*, 2017, 80(6): 1860-1866.



- [30] Tata S, Aouiche A, Bijani C, et al. Mzabimycins A and B, novel intracellular angucycline antibiotics produced by *Streptomyces* sp. PAL114 in synthetic medium containing L-tryptophan. *Saudi Pharmaceut J*, 2019, 27(7): 907-913.
- [31] Sinha R, Sharma B, Dangi AK, et al. Recent metabolomics and gene editing approaches for synthesis of microbial secondary metabolites for drug discovery and development. *World J Microbiol Biotechnol*, 2019, 35(11): 166.
- [32] Ochi K, Okamoto S, Tozawa Y, et al. Ribosome engineering and secondary metabolite production. *Adv Appl Microbiol*, 2004, 56: 155-184.
- [33] Izawa M, Kimata S, Maeda A, et al. Functional analysis of hatomarubigin biosynthesis genes and production of a new hatomarubigin using a heterologous expression system. *J Antibiot (Tokyo)*, 2013, 67(2): 159-162.
- [34] Yang CF, Huang CS, Zhang WJ, et al. Heterologous expression of fluostatin gene cluster leads to a bioactive heterodimer. *Org Lett*, 2015, 17(21): 5324-5327.
- [35] Schäfer M, Le TBK, Hearnshaw SJ, et al. SimC7 is a novel NAD(P)H-dependent ketoreductase essential for the antibiotic activity of the DNA gyrase inhibitor simocyclinone. *J Mol Biol*, 2015, 427(12): 2192-2204.
- [36] Bilyk O, Sekurova ON, Zotchev SB, et al. Cloning and heterologous expression of the grecoacycline biosynthetic gene cluster. *PLoS ONE*, 2016, 11(7): e0158682.
- [37] Myronovskiy M, Brötz E, Rosenkränzer B, et al. Generation of new compounds through unbalanced transcription of landomycin A cluster. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100(21): 9175-9186.
- [38] Fidan O, Yan RM, Gladstone G, et al. New insights into the glycosylation steps in the biosynthesis of Sch47554 and Sch47555. *Chem Bio Chem*, 2018, 19(13): 1424-1432.
- [39] Forget SM, Na J, McCormick NE, et al. Biosynthetic 4,6-dehydratase gene deletion: isolation of a glycosylated jadomycin natural product provides insight into the substrate specificity of glycosyltransferase JadS. *Org Biomol Chem*, 2017, 15(13): 2725-2729.
- [40] Huang CS, Yang CF, Fang ZJ, et al. Discovery of stealthin derivatives and implication of the amidotransferase FlsN3 in the biosynthesis of nitrogen-containing fluostatins. *Mar Drugs*, 2019, 17(3): 150.
- [41] Zhou ZX, Xu QQ, Bu QT, et al. Genome mining-directed activation of a silent angucycline biosynthetic gene cluster in *Streptomyces chattanoogensis*. *Chem Bio Chem*, 2015, 16(3): 496-502.
- [42] Li ZY, Bu QT, Wang J, et al. Activation of anthrachamycin biosynthesis in *Streptomyces chattanoogensis* L10 by site-directed mutagenesis of *rpoB*. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2019, 20(12): 983-994.
- [43] Ziemert N, Alanjary M, Weber T. The evolution of genome mining in microbes—a review. *Nat Prod Rep*, 2016, 33(8): 988-1005.
- [44] Ward AC, Allenby NEE. Genome mining for the search and discovery of bioactive compounds: the *Streptomyces* paradigm. *FEMS Microbiol Lett*, 2018, 365(24): fny240.
- [45] Jin J, Yang XY, Liu T, et al. Fluostatins M-Q featuring a 6-5-6-6 ring skeleton and high oxidized a-rings from marine *Streptomyces* sp. PKU-MA00045. *Mar Drugs*, 2018, 16(3): 87.
- [46] Malmierca GM, González-Montes L, Pérez-Victoria I, et al. Searching for glycosylated natural products in actinomycetes and identification of novel macrolactams and angucyclines. *Front Microbiol*, 2018, 9: 39.
- [47] Yang XY, Jin J, Zhou MJ, et al. Discovery of angucyclinone polyketides from marine actinomycetes with a genomic DNA-based PCR assay targeting type II polyketide synthase. *J Chin Pharm Sci*, 2017, 26(3): 171-179.
- [48] Liu T, Jin J, Yang XY, et al. Discovery of a phenylamine-incorporated angucyclinone from marine *Streptomyces* sp. PKU-MA00218 and generation of derivatives with phenylamine analogues. *Org Lett*, 2019, 21(8): 2813-2817.
- [49] Cruz JC, Maffioli SI, Bernasconi A, et al. Allocyclinones, hyperchlorinated angucyclinones from *Actinoallomurus*. *J Antibiot (Tokyo)*, 2017, 70(1): 73-78.
- [50] Ren X, Lu XH, Ke AB, et al. Three novel members of angucycline group from *Streptomyces* sp. N05WA963. *J Antibiot (Tokyo)*, 2011, 64(4): 339-343.
- [51] Nakagawa K, Hara C, Tokuyama S, et al. Saprolymycins A–E, new angucycline antibiotics

- active against *Saprolegnia parasitica*. J Antibiot (Tokyo), 2012, 65(12): 599-607.
- [52] Igarashi M, Watanabe T, Hashida T, et al. Waldiomycin, a novel WalK-histidine kinase inhibitor from *Streptomyces* sp. MK844-mF10. J Antibiot (Tokyo), 2013, 66(8): 459-464.
- [53] Fakhruzzaman M, Inukai Y, Yanagida Y, et al. Study on *in vivo* effects of bacterial histidine kinase inhibitor, waldiomycin, in *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. J Gen Appl Microbiol, 2015, 61(5): 177-184.
- [54] Mullowney MW, hAinmhire EÓ, Tanouye U, et al. A pimarane diterpene and cytotoxic angucyclines from a marine-derived *Micromonospora* sp. in Vietnam's East Sea. Mar Drugs, 2015, 13(9): 5815-5827.
- [55] Awang AFI, Ahmed QU, Ali Shah SA, et al. Isolation and characterization of novel antibacterial compound from an untapped plant, *Stereospermum fimbriatum*. Nat Prod Res, 2018, 34(5): 629-637.
- [56] Bao J, He F, Li YM, et al. Cytotoxic antibiotic angucyclines and actinomycins from the *Streptomyces* sp. XZHG99T. J Antibiot (Tokyo), 2018, 71(12): 1018-1024.
- [57] Voitsekhovskaia I, Paulus C, Dahlem C, et al. Baikalomycins A-C, new aquayamycin-type angucyclines isolated from Lake Baikal derived *Streptomyces* sp. IB201691-2A. Microorganisms, 2020, 8(5): 680.
- [58] Chang YM, Xing L, Sun CX, et al. Monacyclones G-K and *ent*-gephyromycin A, angucycline derivatives from the marine-derived *Streptomyces* sp. HDN15129. J Nat Prod, 2020, 83(9): 2749-2755.
- [59] Yang L, Hou LK, Li HY, et al. Antibiotic angucycline derivatives from the deepsea-derived *Streptomyces lusitanus*. Nat Prod Res, 2020, 34(24): 3444-3450.
- [60] Zhang WJ, Liu Z, Li SM, et al. Fluostatins I-K from the South China sea-derived *micromonospora rosaria* SCSIO N160. J Nat Prod, 2012, 75(11): 1937-1943.
- [61] 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(2): 202-208.
- [62] Lai ZZ, Yu JC, Ling HP, et al. Grincamycins I-K, cytotoxic angucycline glycosides derived from marine-derived actinomycete *Streptomyces lusitanus* SCSIO LR32. Planta Med, 2018, 84(3): 201-207.
- [63] Xie ZP, Liu B, Wang HP, et al. Kiamycin, a unique cytotoxic angucyclinone derivative from a marine *Streptomyces* sp. Mar Drugs, 2012, 10(3): 551-558.
- [64] Song YX, Liu GF, Li J, et al. Cytotoxic and antibacterial angucycline- and prodigiosin- analogues from the deep-sea derived *Streptomyces* sp. SCSIO 11594. Mar Drugs, 2015, 13(3): 1304-1316.
- [65] Hu ZJ, Qin LL, Wang QQ, et al. Angucycline antibiotics and its derivatives from marine-derived actinomycete *Streptomyces* sp. A6H. Nat Prod Res, 2016, 30(22): 2551-2558.
- [66] Xie ZP, Zhou L, Guo L, et al. Grisemycin, a bridged angucyclinone with a methylsulfinyl moiety from a marine-derived *Streptomyces* sp. Org Lett, 2016, 18(6): 1402-1405.
- [67] Guo L, Xie ZP, Yang Q, et al. Kiamycins B and C, unusual bridged angucyclinones from a marine sediment-derived *Streptomyces* sp.. Tetrahed Lett, 2018, 59(22): 2176-2180.
- [68] Zhou B, Ji YY, Zhang HJ, et al. Gephyyamycin and cysrabelomycin, two new angucyclinone derivatives from the *Streptomyces* sp. HN-A124. Nat Prod Res, 2019: 1-6. DOI: 10.1080/14786419.2019.1660336.
- [69] Yixizhuoma, Ishikawa N, Abdelfattah MS, et al. Elmenols C-H, new angucycline derivatives isolated from a culture of *Streptomyces* sp. IFM 11490. J Antibiot (Tokyo), 2017, 70(5): 601-606.
- [70] Ma XY, Wang GY, Zhang ZY, et al. Two glucosylated angucyclines from deep-sea-derived *Streptomyces* sp. PKU-MA01297. J Chin Pharm Sci, 2019, 28(12): 835-842.
- [71] Zhang SM, Zhang L, Kou LJ, et al. Isolation, stereochemical study, and racemization of ( $\pm$ )-pratenone A, the first naturally occurring 3-(1-naphthyl)-2-benzofuran-1(3H)-one polyketide from a marine-derived actinobacterium. Chirality, 2020, 32(3): 299-307.
- [72] Gui C, Liu YN, Zhou ZB, et al. Angucycline glycosides from mangrove-derived *Streptomyces diastaticus* subsp. SCSIO GJ056. Mar Drugs, 2018, 16(6): 185.
- [73] Peng AH, Qu XY, Liu FY, et al. Angucycline glycosides from an intertidal sediments strain *Streptomyces* sp. and their cytotoxic activity against Hepatoma Carcinoma cells. Mar Drugs, 2018,

- 16(12): 470.
- [74] Abdelmohsen UR, Bayer K, Hentschel U. Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes. *Nat Prod Rep*, 2014, 31(3): 381-399.
- [75] Vicente J, Stewart AK, Van Wagoner RM, et al. Monacyclines, new angucyclinone metabolites isolated from *Streptomyces* sp. M7\_15 associated with the Puerto Rican sponge *Scopalina ruetzleri*. *Mar Drugs*, 2015, 13(8): 4682-4700.
- [76] Guo ZK, Wang T, Guo Y, et al. Cytotoxic angucyclines from *amycolatopsis* sp. HCa1, a rare actinobacteria derived from *Oxya chinensis*. *Planta Med*, 2011, 77(18): 2057-2060.
- [77] Shaaban KA, Ahmed TA, Leggas M, et al. Saquayamycins G–K, cytotoxic angucyclines from *Streptomyces* sp. Including two analogues bearing the aminosugar rednose. *J Nat Prod*, 2012, 75(7): 1383-1392.
- [78] Boonlarpradab C, Suriyachadkun C, Rachtawee P, et al. Saccharosporones A, B and C, cytotoxic antimalarial angucyclinones from *Saccharopolyspora* sp. BCC 21906. *J Antibiot (Tokyo)*, 2013, 66(6): 305-309.
- [79] Rabia-Boukhalfa YH, Eveno Y, Karama S, et al. Isolation, purification and chemical characterization of a new angucyclinone compound produced by a new halotolerant *Nocardioopsis* sp. HR-4 strain. *World J Microbiol Biotechnol*, 2017, 33(6): 126.
- [80] Chen CX, Song FH, Guo H, et al. Isolation and characterization of LS1924A, a new analog of emycins. *J Antibiot (Tokyo)*, 2012, 65(8): 433-435.
- [81] Jiang YJ, Gan LS, Ding WJ, et al. Cytotoxic gephyromycins from the *Streptomyces* sp. SS131. *Tetrahedron Lett*, 2017, 58(38): 3747-3750.
- [82] Kalyon B, Tan GY, Pinto JM, et al. Langkocyclines: novel angucycline antibiotics from *Streptomyces* sp. Acta 3034. *J Antibiot (Tokyo)*, 2013, 66(10): 609-616.
- [83] Wang L, Wang L, Zhou Z, et al. Cangumycins A–F, six new angucyclinone analogues with immunosuppressive activity from *Streptomyces*. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(12): 982-987.
- [84] Dan VM, Vinodh JS, Sandesh CJ, et al. Molecular networking and whole-genome analysis aid discovery of an angucycline that inactivates mTORC1/C2 and induces programmed cell death. *ACS Chem Biol*, 2020, 15(3): 780-788.
- [85] Kim JW, Kwon Y, Bang S, et al. Unusual bridged angucyclinones and potent anticancer compounds from *Streptomyces bulli* GJA1. *Org Biomol Chem*, 2020, 18(41): 8443-8449.
- [86] Steele AD, Teijaro CN, Yang D, et al. Leveraging a large microbial strain collection for natural product discovery. *J Biol Chem*, 2019, 294(45): 16567-16576.
- [87] Blin K, Shaw S, Kautsar SA, et al. The antiSMASH database version 3: increased taxonomic coverage and new query features for modular enzymes. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D639-D643.
- [88] Rudolf JD, Yan XH, Shen B. Genome neighborhood network reveals insights into enediyne biosynthesis and facilitates prediction and prioritization for discovery. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2016, 43(2/3): 261-276.
- [89] Hindra, Huang TT, Yang D, et al. Strain prioritization for natural product discovery by a high-throughput real-time PCR method. *J Nat Prod*, 2014, 77(10): 2296-2303.
- [90] Yan XH, Ge HM, Huang TT, et al. Strain prioritization and genome mining for enediyne natural products. *mBio*, 2016, 7(6): e02104-16.
- [91] Yan XH, Chen JJ, Adhikari A, et al. Genome mining of *Micromonospora yangpuensis* DSM 45577 as a producer of an anthraquinone-fused enediyne. *Org Lett*, 2017, 19(22): 6192-6195.
- [92] Quinn RA, Nothias LF, Vining O, et al. Molecular networking as a drug discovery, drug metabolism, and precision medicine strategy. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(2): 143-154.
- [93] Shen B. A new golden age of natural products drug discovery. *Cell*, 2015, 163(6): 1297-1300.
- [94] Fan KQ, Zhang Q. The functional differentiation of the post-PKS tailoring oxygenases contributed to the chemical diversities of atypical angucyclines. *Synth Syst Biotechnol*, 2018, 3(4): 275-282.
- [95] Pan GH, Gao XQ, Fan KQ, et al. Structure and function of a C-C bond cleaving oxygenase in atypical angucycline biosynthesis. *ACS Chem Biol*, 2017, 12(1): 142-152.

(本文责编 陈宏宇)