云南大学学报(自然科学版), 2023, 45(1):180~185 DOI: 10.7540/j.ynu.20220136
Journal of Yunnan University: Natural Sciences Edition

链霉菌中3个新脂肪酰胺类化合物

何江波[1], 王　莹[1], 康大伟[1], 牛燕芬[1], 王纪爱[1], 陈　秀[1], 毕晓旭[1], 栾　杰[2**], 曹艳茹[1**]
(1. 昆明学院 医学院, 云南 昆明　650214; 2. 云南省疾病预防控制中心 理化检测中心, 云南 昆明　650022)

摘要: 特殊生境放线菌具有较大的开发前景, 因其独特的生存环境可以产生新颖且具有生物活性的次生代谢产物. 研究 *Streptomyces plumbidurans* 发酵液的次生代谢成分, 并寻找具有抗肿瘤及抗菌活性的小分子化合物. 利用凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱、D101 大孔树脂柱色谱、硅胶柱色谱等分离技术, 并采用现代波谱学方法鉴定化合物的结构. 采用噻唑蓝比色法测试化合物 **1**~**3** 抗肿瘤细胞毒活性; 采用微量稀释法检测体外抑菌活性. 从 *Streptomyces plumbidurans* 发酵液中确定 3 个新脂肪酰胺类化合物, 并依次命名为: kcacylamide A(**1**)、kcacylamide B(**2**)和 kcacylamide C(**3**), 生物活性结果显示 3 个化合物在 50 μmol/L 均无明显抗肿瘤细胞毒活性及抑菌活性. 研究首次发现 *Streptomyces plumbidurans* 会产生脂肪酰胺类化学物质.

关键词: 链霉菌; 脂肪酰胺; 天然产物
中图分类号: Q939.13　　**文献标志码:** A　　**文章编号:** 0258−7971(2023)01−0180−06

特殊生境的微生物具有较高的创造能力, 可以产生多种多样结构新颖的活性成分, 这些活性化学物质可以成为研究药物的先导化合物, 有的甚至可以成为生物农药[1]. 在特殊生境微生物的研究中, 链霉菌研究受到广大学者的较高关注. 链霉菌属于好氧革兰氏阳性菌, 广泛分布于土壤、海洋、极端环境和一些生物体内[2-5]. 链霉菌基因组特有的生物合成基因簇, 可以产生具有生物活性的次生代谢产物, 这些代谢产物被应用于抗病毒、抗真菌、抗肿瘤药物开发等[6]. 李惠玲等[7]从海洋链霉菌 *Streptomyces* sp. S598 的次生代谢产物中分离得到抗菌活性物质缬氨霉素, 对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌均有较好的抑制活性. 在现代农用抗生素开发方面, 链霉菌也具有较大的优势, 李萍等[8]从黄抗霉素链霉菌的次生代谢产物中分离得到一种杀线虫活性化合物 TDD, 该化合物对线虫 48 h 的致死率为 40%. 国产的杀稻瘟菌素就是从有色产色链霉菌(*Streptomyces griseochromogenes*)的代谢产物中分离得到[9]. 因此链霉菌是一类应用前景广阔的微生物资源, 研究链霉菌的次生代谢产物, 对挖掘药物资源具有重要的意义.

本课题组一直从事微生物资源开发, *Streptomyces plumbidurans*[10]是我们从昆明东川铜矿中分离得到, 并经 16S rRNA 基因鉴定为链霉菌(GenBank 号: MW526995). 为深入研究该菌, 寻找可利用的天然产物, 我们采用 PDB 培养基发酵该菌, 对发酵液进行浓缩, 然后采用乙酸乙酯萃取, 并对乙酸乙酯部分进行系统分离与化学成分鉴定. 从中分离得到 3 个新脂肪酰胺类化合物, 分别命名为 kcacylamide A ~ C (**1** ~ **3**) (图 1). 我们对化合物 **1** ~ **3** 进行体外抗肿瘤活性和体外抑菌活性评价, 3 个化合物在50 μmol/L 浓度下均无明显的抑制人结肠癌细胞 (HCT116)、人宫颈癌细胞 (Hela)、肝癌细胞 (LM-3)肿瘤细胞生长活性和抑制大肠杆菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)以及枯草芽孢杆菌(ATCC6051)活性. 本文主要报道 *Streptomyces plumbidurans* 代谢产物中的 3 个脂肪酰胺类化合物分离鉴定及初步活性筛选结果.

收稿日期: 2022-04-04;　**接受日期:** 2022-06-09;　**网络出版日期:** 2022-09-17
基金项目: 云南省应用基础研究计划高校联合面上基金(2018FH001-052, 202001BA070001-043; 2018FH001-003); 昆明市春城计划青年拔尖人才项目(C201914001); 省部共建云南生物资源保护与利用国家重点实验室开放课题(2019KF005).
作者简介: 何江波(1984−), 男, 四川人, 博士, 副教授, 主要研究天然产物化学. E-mail: 147976602@qq.com.
** **通信作者:** 栾　杰(1986−), 女, 云南人, 主管技师, 主要研究理化检测分析. E-mail: 250453179@qq.com.
曹艳茹(1983−), 女, 内蒙古人, 教授, 主要研究生物资源与利用. E-mail: 114491753@qq.com.

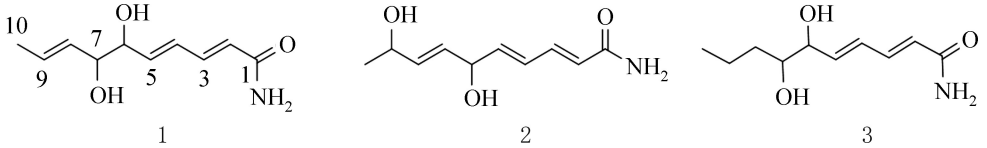

图 1　化合物 1～3 的化学结构

Fig. 1　Chemical structures of compounds **1** ~ **3**

1　材料与方法

1.1　材料　菌株鉴定: 自云南昆明东川铜矿中分离, 16S rRNA 基因序列分析结果表明 KC 17012 为链霉菌属(*Streptomyces*)菌株, GenBank 号: MW526995. 菌种目前保存于昆明学院农学与生命科学学院菌种库(编号为 KC 17012).

Streptomyces plumbidurans 活化培养基: PDA 培养基, 土豆 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 自来水 1 000 mL, 微量盐 1 mL, 121 ℃, 灭菌 30 min.

Streptomyces plumbidurans 发酵培养基: PDB 培养基, 土豆 200 g, 葡萄糖 20 g, 自来水 1 000 mL, 微量盐 1 mL, 121 ℃, 灭菌 30 min.

指示菌培养基: LB 固体培养基, 胰蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, 氯化钠 10 g, 琼脂 20 g, 自来水 1 000 mL.

1.2　菌株活化与种子液的培养　将保存于 4 ℃ 的菌株 *Streptomyces plumbidurans* 接种于 PDA 平板, 28 ℃ 培养 7 d 以进行活化. 然后将单菌落接种至改良 ISP 2 培养基 (1 L): 恒温摇床 28 ℃, 180 r/min, 培养 3 d, 作为种子液.

1.3　菌株发酵　将种子液接种至 PDB 培养基 25 L, 培养 8 d, 28 ℃, 180 r/min, 发酵液采用纱布过滤, 收集滤液, 得发酵液 25 L, 然后将发酵液减压浓缩至 2 L.

1.4　仪器与试剂　质谱仪(美国 Agilent 6500 系列 Q-TOF LC/MS); 核磁共振仪(Avance 600 MHz, TMS 作为内标); 万分之一电子天平(上海越平科学仪器有限公司); 摇床(上海智城分析仪器制造有限公司, ZWY-2102); 柱色谱用硅胶、薄层色谱用硅胶 GF254(青岛海洋化工厂有限公司); Sephadex LH-20(美国 GE 公司); D101 大孔树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司); 色谱试剂(上海星可高纯度试剂公司); 石油醚、二氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯、甲醇等有机溶剂均为工业纯, 经重蒸后使用. 显色剂为 H_2SO_4(10%)的乙醇溶液.

1.5　发酵代谢产物的提取与分离　发酵液浓缩液采用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次, 浓缩萃取液, 得乙酸乙酯浸膏 43 g. 将乙酸乙酯浸膏用甲醇溶解, 过滤, 除去不溶物, 然后采用 D101 大孔树脂柱(ϕ80 mm×500 mm)初步分离, 洗脱剂为 10% ~ 100% 乙醇水梯度洗脱; 根据薄层色谱(TLC), 10% 浓硫酸乙醇溶液显色合并相似成分, 得 6 个组分 Fr A ~ F.

Fr A 组分(1.3 g), 经 Sephadex LH-20 柱(MeOH)纯化, 根据 TLC 合并相似组分, 得到 Fr A 1 ~ 3. Fr A-2(132 mg)部分, 采用硅胶柱色谱分离, 洗脱剂为石油醚−丙酮(体积比 20∶1 ~ 3∶1), 得到化合物 **1**(11 mg)和化合物 **2**(6 mg). FrA-3(78 mg) 部分结晶后的母液, 通过硅胶柱色谱分离, 洗脱剂为石油醚−丙酮(体积比 15∶1 ~ 3∶1), 得到化合物 **3**(2.8 mg).

1.6　体外抗肿瘤和抑菌活性评价

1.6.1　体外抗肿瘤细胞毒活性　实验采用 MTT 法检测人结肠癌细胞(HCT116)、人宫颈癌细胞(Hela)、肝癌细胞(LM-3)存活率, 按照使用说明书用 MTT [3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐] 法检测细胞存活率. 全自动酶标仪(波长 570 nm)测定各孔 OD 值(A); 空白对照加等体积 DMSO 处理, 以紫杉醇为阳性对照药(4 μmol/L), 每组重复 3 个复孔. 将 A 值作为反映细胞活性及代谢状况的参数, 各实验重复 3 次, 抑制率按公式进行计算.

$$\text{生长抑制率} = \frac{\Delta A_{\text{空白对照}} - \Delta A_{\text{待测提取物}}}{\Delta A_{\text{空白对照}}} \times 100\%.$$

1.6.2　体外抑菌实验　采用微量稀释法检测化合物的体外抑菌活性. 分别将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌以及枯草芽孢杆菌接种于 LB 固体培养基, 37 ℃ 培养 24 h 后, 挑取单菌落 2 ~ 3 个于 20 mL LB 液体培养基中, 37 ℃, 180 r/min 摇床培养 6 h, 用 LB 液体培养基稀释成 1×10^5 CFU/mL 菌悬液. 称取适量的化合物 **1** ~ **3**, 用 DMSO 配制成 100 μmol/L 的储存液, 并用 0.22 μm 微孔滤膜过滤. 取无菌的 96 孔板, 外周 36 孔分别加入 100 μL 无菌水, 其余

每孔加入 100 μL 1×10^5 CFU/mL 菌悬液. 同时, 选取环丙沙星作为阳性对照, DMSO 作空白对照, 且每个梯度设 3 个复孔, 微板观察法检测其最小抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)值.

2 结果与分析

2.1 化合物 1 的结构鉴定 无色油状物, 易溶于甲醇、氯仿. HR-ESI-MS 显示分子式为 $C_{10}H_{15}NO_3$ (*m/z* 198.112 0 $[M+H]^+$, 计算值为 $C_{10}H_{15}NO_3[M+H]^+$ 198.112 5), 不饱和度为 4. 化合物 **1** 的 ^{1}H NMR 谱(表 1)显示含有 2 个含氧的次甲基氢 [δ_H 4.07(t, *J*=5.4 Hz, H-6), 3.95(t, *J*=6.0 Hz, H-7)], 6 个烯氢 [δ_H 6.02(d, *J*=14.4 Hz, H-2), 7.17(dd, *J*=15.0, 11.4 Hz, H-3), 6.41(dd, *J*=15.6, 11.4 Hz, H-4), 6.16(dd, *J*=15.6, 6.0 Hz, H-5), 5.52(ddd, *J*=15.6, 7.2, 1.8 Hz, H-8), 5.72 (1H, dq, *J*=15.0, 6.6 Hz, H-9)], 根据耦合常数确定 3 个双键为 *E* 式, 1 个甲基信号 [δ_H1.71, d, *J*=6.6 Hz, H-10], 共 10 个氢信号. ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示该化合物有 10 个碳信号(表 1), 包括 1 个酮羰基 [δ_c171.2], 2 个次甲基的碳信号 [δ_c76.7, 76.0], 1 个甲基信号 [δ_c18.0], 其余为双键碳信号, 因此由 3 个双键和 1 个羰基构成该化合物的 4 个不饱和度, 推测该化合物为链状不饱和脂肪酰胺. 根据 ^{1}H-^{1}H COSY 相关, 我们可以得到 H-2/H-3/H-4/H-5/H-6/H-7/H-8/H-9/H-10 相关(图 2). 二维 HMBC 图谱给出 H-10 与 C-9, C-8 相关, H-8 与 C-7, C-9 相关, H-5 与 C-6, C-4 相关, H-2 与 C-1, C-3 相关. 由此确定化合物 **1** 的平面结构, 因该类成分为长链化合物, 故未鉴定其绝对构型, 因此本文报道其平面结构为(2*E*, 4*E*, 8*E*)6, 7-二羟基-癸酸酰胺, 并命名为 kcacylamide A.

2.2 化合物 2 的结构鉴定 无色油状物, 易溶于甲醇、氯仿. HR-ESI-MS 显示分子式为 $C_{10}H_{15}NO_3$ (*m/z* 198.112 2 $[M+H]^+$, 计算值为 $C_{10}H_{15}NO_3[M+H]^+$ 198.112 5), 不饱和度为 4. 化合物 **2** 的 ^{1}H NMR 谱(表 1)显示含有 2 个含氧的次甲基氢 [δ_H 4.67(t, *J*=6.0 Hz, H-6), 4.25(t, *J*=5.1 Hz, H-9)], 6 个烯氢 [δ_H 6.04(d, *J*=15.0 Hz, H-2), 7.16(dd, *J*=15.0, 10.8 Hz, H-3), 6.38(dd, *J*=15.0, 11.4 Hz, H-4), 6.09(dd, *J*=15.6, 6.0 Hz, H-5), 5.65(dd, *J*=15.6, 6.0 Hz, H-7), 5.74(dd, *J*=15.6, 6.0 Hz, H-8)], 根据耦合常数确定 3 个双键为 *E* 式, 1 个甲基信号 [δ_H 1.22, d, *J*=6.6 Hz, H-10], 共 10 个氢信号. ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示该化合物有 10 个碳信号(表 1), 包括 1 个酮羰基 [δ_c171.2], 2 个次甲基的碳信号 [δ_c76.7, 76.0], 1 个甲基信号 [δ_c18.0], 其余为双键碳信号, 因此由 3 个

表 1 化合物 1～3 的 ^{1}H NMR(600 MHz)和 ^{13}C NMR(150 MHz) 数据

Tab. 1 ^{1}H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compounds **1**−**3**

序号	**1**		**2**		**3**	
	δ_C, type	δ_H (*J*/Hz)	δ_C, type	δ_H (*J*/Hz)	δ_C, type	δ_H (*J*/Hz)
1	171.2, qC		171.6, qC		171.3, qC	
2	124.4, CH	6.02 (1H, d, 14.4)	124.8, CH	6.04 (1H, d, 15.0)	124.6, CH	6.04 (1H, d, 15.6)
3	142.4, CH	7.17 (1H, dd, 15.0, 11.4)	142.2, CH	7.16 (1H, dd, 15.0, 10.8)	142.6, CH	7.20 (1H, dd, 15.0, 10.8)
4	130.1, CH	6.41 (1H, dd, 15.6, 11.4)	128.7, CH	6.38 (1H, dd, 15.0, 11.4)	130.4, CH	6.43 (1H, dd, 15.6, 11.4)
5	142.3, CH	6.16 (1H, dd, 15.6, 6.0)	143.9, CH	6.09 (1H, dd, 15.6, 6.0)	142.7, CH	6.24 (1H, dd, 15.6, 6.6)
6	76.0, CH	4.07 (1H, t, 5.4)	73.0, CH	4.67 (1H, t, 6.0)	76.4, CH	4.02 (1H, t, 6.0)
7	76.7, CH	3.95 (1H, t, 6.0)	131.1, CH	5.65 (1H, dd, 15.6, 6.0)	75.4, CH	3.51 (1H, m)
8	131.5, CH	5.52 (1H, ddd, 15.6, 7.2, 1.8)	136.8, CH	5.74 (1H, dd, 15.6, 6.0)	36.2, CH_2	1.37 (1H, overlap) 1.55 (1H, overlap)
9	129.4, CH	5.72 (1H, dq, 15.0, 6.6)	68.6, CH	4.25 (1H, t, 5.1)	20.2, CH_2	1.37 (1H, overlap) 1.55 (1H, overlap)
10	18.0, CH_3	1.71 (3H, d, 6.6)	23.5, CH_3	1.22 (3H, d, 6.6)	14.6, CH_3	0.94 (3H, t, 6.6)

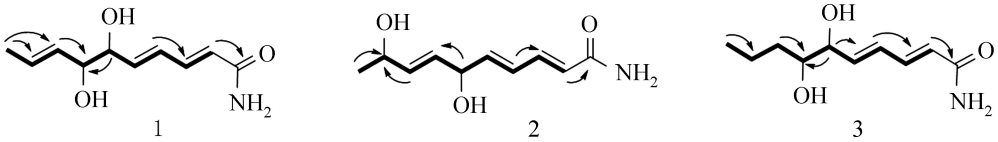

图 2　化合物 1～3 的重要 ^{1}H-^{1}H COSY 和 HMBC 相关

Fig. 2　The key ^{1}H-^{1}H COSY and HMBC of compounds **1**–**3**

双键和 1 个羰基构成该化合物的 4 个不饱和度, 推测该化合物为化合物 **1** 的类似物. 根据 ^{1}H-^{1}H COSY 和 HMBC 图谱推测该化合物的平面结构(图 2), 为(2*E*, 4*E*, 7*E*)6, 9-二羟基-癸酸酰胺, 并命名为 kcacylamide B.

2.3　化合物 3 的结构鉴定　无色油状物, 易溶于甲醇、氯仿. HR-ESI-MS 显示分子式为 $C_{10}H_{17}NO_3$ (*m/z* 200.127 8 $[M+H]^+$, 计算值为 $C_{10}H_{17}NO_3[M+H]^+$ 200.128 1), 不饱和度为 3. 化合物 **3** 的 ^{1}H NMR 谱(表 1)显示含有 2 个含氧的次甲基氢 [δ_H 4.02(t, *J*=6.0 Hz, H-6), 3.51(m, H-7)], 4 个烯氢 [δ_H 6.02(d, *J*=15.6 Hz, H-2), 7.20(dd, *J*=15.0, 10.8 Hz, H-3), 6.43(dd, *J*=15.6, 11.4 Hz, H-4), 6.24(dd, *J*=15.6, 6.6 Hz, H-5)], 根据耦合常数确定 3 个双键为 *E* 式, 1 个甲基信号 [δ_H 1.71, d, *J*=6.6 Hz, H-10], 共 10 个氢信号. ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示该化合物有 10 个碳信号(表 1), 包括 1 个酮羰基 [δ_c171.2], 2 个次甲基的碳信号 [δ_c76.7, 76.0], 1 个甲基信号 [δ_c18.0], 其余为双键碳信号, 因此由 3 个双键和 1 个羰基构成该化合物的 4 个不饱和度, 推测该化合物为链状不饱和脂肪酰胺. 根据 ^{1}H-^{1}H COSY 相关, 我们可以得到 H-2/H-3/H-4/H-5/H-6/H-7/H-8/H-9/H-10 相关(图 2). 二维 HMBC 图谱给出 H-10 与 C-9, C-8 相关, H-8 与 C-7, C-9 相关, H-5 与 C-6, C-4 相关, H-2 与 C-1, C-3 相关. 由此确定化合物 **3** 的平面结构, 为(2*E*, 4*E*, 8*E*)6, 7-二羟基-癸酸酰胺, 并命名为 kcacylamide C.

Kcacylamide A (**1**): 无色油状物; $[\alpha]_D^{20}$-2.96 (*c* 0.1, 甲醇); UV(甲醇) λ_{max}(log ε)为 255 nm (3.89); IR(KBr)ν_{max} 为3 373, 2 937, 2 917, 1 664, 1 606, 1 409, 1 125, 992 cm^{-1}; ^{1}H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1; ESI-MS(正离子) *m/z* 198 $[M+H]^+$; HR-ESI-MS(正离子) *m/z* 198.112 0 $[M+H]^+$($C_{10}H_{15}NO_3$, 计算值 198.112 5).

Kcacylamide B (**2**): 无色油状物; $[\alpha]_D^{20}$+21.98(*c* 0.09, 甲醇); UV(甲醇) λ_{max}(log ε)为 256 nm(3.87); IR(KBr) ν_{max} 为 3 413, 2 921, 2 873, 1 668, 1 642, 1 406, 1 389, 1 081, 1 052, 976 cm^{-1}; ^{1}H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1; ESI-MS (正离子)*m/z* 198 $[M+H]^+$; HR-ESI-MS(正离子)*m/z* 198.112 2 $[M+H]^+$($C_{10}H_{15}NO_3$, 计算值 198.112 5).

Kcacylamide C (**3**): 淡黄色油状物; $[\alpha]_D^{20}$+15.3 (*c* 0.04, 甲醇); UV(甲醇) λ_{max}(log ε)为 255 nm (3.88); IR(KBr)ν_{max} 为3 372, 2 920, 2 872, 1 662, 1 601, 1 414, 1 384, 1 075, 1 024, 992 cm^{-1}; ^{1}H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1; ESI-MS (正离子)*m/z* 200 $[M+H]^+$; HR-ESI-MS(正离子)*m/z* 200.127 8 $[M+H]^+$($C_{10}H_{17}NO_3$, 计算值 200.128 1).

2.4　活性鉴定结果　通过 MTT 法检测化合物 **1**～**3** 的体外抗肿瘤活性, 检测人结肠癌细胞(HCT116)、人宫颈癌细胞(Hela)、肝癌细胞(LM-3)存活率; 采用微板观察法检测枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)MIC 值(阳性对照环丙沙星 MIC 为 2 μmol/L), 结果显示 3 个化合物在 50 μmol/L 浓度下均无显著的抗肿瘤细胞毒活性及抑菌活性.

3　讨论与结论

在普通微生物研究达到一定程度后, 越来越多的研究者们将研究目标锁定在特殊环境微生物, 例如: 海洋微生物、高温温泉微生物、内生菌等. 这些特殊环境微生物具有产生丰富代谢产物的潜力, 可以利用其次级代谢产物开发创新型杀菌剂、新药等. 链霉菌本身就是一个具有较高代谢能力的菌株, 国内外较多学者均在不遗余力地深入挖掘该类菌株. *Streptomyces plumbidurans* 自云南昆明东川铜矿中分离, 采用 PDB 培养基发酵得到次生代谢产物. 采用高效液相检测发现, 该菌的代谢产物较为丰富, 而且较为复杂. 于是我们在没有优化培养基的条件下进行该菌株的大规模发酵, 采用经典的植物化学分离鉴定方法, 对其发酵液进行研究, 获得 3 个新的脂肪酰胺类成分. 关于该类成分的研究报道较少, 我们利用目前实验室现有的活性筛选平台,

对其进行抗肿瘤细胞毒和抑菌活性筛选,目前暂时没有发现以上 3 个新成分具有显著的生理活性,因此我们将继续开发其他方面的生理活性. 脂肪酰胺类成分在链霉菌的次生代谢产物中被报道较少,2019 年 Hou 等[11]从海洋链霉菌 *Strptomyces youssoufiensis* 的基因突变体的分离得到一个新的脂肪酰胺类化合物. 土壤来源的链霉菌 *Strptomyces maoxianensis* 中曾报道分离得到 2 个新的脂肪酰胺类成分,通过细胞毒测试发现化合物 1 和 2 存在较弱的抗人肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2 和白血病 K562 细胞的活性[12]. 关于这类成分的活性研究报道,C_{20} 长链脂肪酰胺具有类似大麻素的生理活性,具有开发成抗抑郁和抗焦虑药物的潜力[13]. 同时还认为脂肪酰胺虽然结构较为简单,但是却是一类重要的信号分子,影响我们的痛觉、炎症、睡眠等重要的生理功能[14]. 由此可见,对于该菌的开发,还可以进一步深入研究,通过优化培养基以提高代谢产物的多样性,为先导化合物的开发提供资源.

本文从东川铜矿中分离得到一株 *Streptomyces plumbidurans*,采用 PDB 培养基发酵该菌,并研究其次生代谢产物,从中分离得到 3 个全新的脂肪酰胺类化合物,并利用核磁、质谱、红外光谱等确定其平面结构. 对 3 个新化合物进行了初步的抗肿瘤细胞毒活性测试和抗菌活性测试,为深入研究该菌的次生代谢产物奠定了基础.

参考文献:

[1] Ashforth E J, Fu C, Liu X, et al. Bioprospecting for antituberculosis leads from microbial metabolites[J]. Natural Product Reports, 2010, 27(11): 1 709-1 719. DOI: 10.1039/c0np00008f.

[2] 董玉静, 张京星, 李文利, 等. 深海链霉菌 *Streptomyces samsunensis* 中 geldanamycin 类抗生素的分离纯化[J]. 中国海洋药物, 2020, 39(2): 1-11.
Dong Y J, Zhang J X, Li W L, et al. Isolation of geldanamycin antibiotics from deep sea-derived *Streptomyces samsunensis*[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2020, 39(2): 1-11.

[3] 徐丽华, 李文均, 崔晓龙, 等. 新疆青海极端环境发现大量未知放线菌[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2003, 25(3): 283-292.
Xu L H, Li W J, Cui X L, et al. Discovery of a vast amount of unknown actinomycetesfrom extreme environments in Xinjiang and Qinghai Province, China[J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2003, 25(3): 283-292.

[4] 陈义光, 姜怡, 崔晓龙, 等. 具抗肿瘤活性中度嗜盐菌 YIM 80186 的分离和系统发育分析[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2006, 28(5): 444-449.
Chen Y G, Jiang Y, Cui X L, et al. Isolation and hpylogenetic analysis of one moderately halophile YIM 80186 with strong anticancer activity[J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2006, 28(5): 444-449.

[5] Kim G S, Kim G J, Lee B, et al. Highly oxygenated angucycline from *Streptomyces* sp. KCB15JA014[J]. The Journal of Antibiotics, 2020, 73: 859-862. DOI: 10.1038/s41429-020-0348-8.

[6] Nett M, Ikeda H, Moore B S. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes[J]. Natural Product Reports, 2009, 26(11): 1 362-1 384. DOI: 10.1039/b817069j.

[7] 李慧玲, 赵玉瑛, 姚敏娜, 等. 海洋链霉菌 *Streptomyces sp*. S598 中抗菌活性产物的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(6): 560-566. DOI: 10.13461/j.cnki.cja.006908.
Li H L, Zhao Y Y, Yao M N, et al. Study of antibiotic bioactive metabolites from marine *Streptomyces* sp. S598[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2020, 45(6): 560-566.

[8] 李萍, 马莉, 奚家勤, 等. 放线菌 BJLSH9 菌株兼抗线虫及烟草疫霉菌的生防活性及其杀线虫代谢产物鉴定[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2012, 34(5): 590-595.
Li P, Ma L, Xi J Q, et al. Studies on the biocontrol efficiencies of strain BJLSH9 towards nematode and Phytophthora nicotianaeand and the identification of the nematicidal metabolite[J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2012, 34(5): 590-595.

[9] 李庆蒙. 链霉菌菌株 JD211 的鉴定及其次级代谢产物的初步研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2014.
Li Q M. The identification of *Streptomyces* sp JD211 and studies on its secondary metabolites[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2014.

[10] Jiao Y, Fan B J, Cao Y R, et al. *Streptomyces plumbidurans* sp. nov., a Pb^{2+}-tolerant actinomycete[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2022, 72(8): 36 018 780. DOI: 10.1099/ijsem.0.005505.

[11] Hou J, Liu J, Yang L, et al. Discovery of an unusual fatty acid amide from the ndgRyo gene mutant of marine-derived *streptomyces youssoufiensis*[J]. Marine Drugs, 2018, 17(1): 1-7. DOI: 10.3390/md17010012.

[12] 李金猛. *Streptomyces maoxianensis* 和 *Streptomyces* sp. HS-NF-1178 活性产物的分离及鉴定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017.
Li J M. Isolation and identification of active *Streptomyces maoxianensis* and *Streptomyces* sp. HS-NF-1178[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.

[13] Li M M, Jiang Z E, Song L Y, et al. Antidepressant and anxiolytic-like behavioral effects of erucamide, a bioactive fatty acid amide, involving the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in mice[J]. Neuroscience Letters, 2017, 640: 6-12. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.12.072.

[14] Ezzili C, Otrubova K, Boger D L. Fatty acid amide signaling molecules[J]. Bioorganic Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(20): 5 959-5 968. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.08.048.

Three new acylamide compounds from *Streptomyces plumbidurans*

HE Jiang-bo[1], WANG Ying[1], KANG Da-wei[1], NIU Yan-fen[1], WANG Ji-ai[1], CHEN Xiu[1], BI Xiao-xu[1], LUAN Jie[2**], CAO Yan-ru[1**]

(1. School of Medicine, Kunming University, Kunming 650214, Yunnan, China;
2. Center for Physical and Chemical Testing, Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, Yunnan, China)

Abstract: Special habitat actinomycetes have great development prospects because their unique living environment can produce novel and biologically active secondary metabolites. The secondary metabolites of *Streptomyces plumbidurans* were studied, and small molecular compounds with antitumor and antimicrobial activities were searched. The secondary metabolites were isolated by Sephadex LH-20 column chromatography, D101 macroporous resin, and RP-18 reverse-phase column chromatography from the EtOAc extract of the culture of *Streptomyces plumbidurans*. The structures were characterized by various spectroscopic (^{1}H NMR, ^{13}C NMR and MS) and comparison with the data of literatures. MTT method and microdilution method were used to test the antitumor activity in vitro and antimicrobial activity of the above compounds. Three new compounds identified as kcacylamide A (**1**), kcacylamide B (**2**) and kcacylamide C (**3**). Compounds **1**−**3** did not show significant activity at the concentration of 50 μmol/L. In this study, we found that *Streptomyces plumbidurans* could produce acylamide compounds for the first time.

Key words: *Streptomyces plumbidurans*; acylamide; natural products